

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

## NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
 en sa qualité d'office élu

<b>Date d'expédition</b> (jour/mois/année) 11 septembre 2001 (11.09.01)	
<b>Demande internationale no</b> PCT/FR00/02766	<b>Référence du dossier du déposant ou du mandataire</b> 341355/18208
<b>Date du dépôt international</b> (jour/mois/année) 05 octobre 2000 (05.10.00)	<b>Date de priorité</b> (jour/mois/année) 05 octobre 1999 (05.10.99)
<b>Déposant</b> LOPEZ, Evelyne etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

02 mai 2001 (02.05.01)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

<b>Bureau international de l'OMPI</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé R. Forax no de téléphone: (41-22) 338.63.68
---	--



## PATENT COOPERATION TREATY

WO 01/24804  
PCT/FR00/02766**PCT**NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE  
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL  
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

MARTIN, Jean-Jacques  
Cabinet Regimbeau  
20 rue de Chazelles  
F-75847 Paris Cedex 17  
FRANCE

[stamp]

Date of mailing (day/month/year) 12 April 2001 (12.04.01)		IMPORTANT NOTICE
Applicant's or agent's file reference 341355/18208		
International application No PCT/FR00/02766	International filing date (day/month/year) 05 October 2000 (05.10.00)	Priority date (day/month/year) 05 October 1999 (05.10.99)
Applicant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) etc		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:  
AU, KP, KR, US  
In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, each designated Office will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).
2. The following designated Offices have waived their requirement whereby this communication must take place by that date:  
AE, AG, AL, AM, AP, AT, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EA, EE, EP, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OA, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU,

Communication will take place only when requested by these Offices. Moreover, the applicant is not required to furnish a copy of the international application to the Offices in question (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on

12 April 2001 (12.04.01) under No. WO 01/24804

## REMINDER REGARDING CHAPTER 11 (Article 31.2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

## REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer:  J. Zahra  Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	--

3946072





# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

## AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA COMMUNICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:  
MARTIN, Jean-Jacques  
Cabinet Regimbeau  
20 rue de Chazelles  
F-75847 Paris Cedex 17  
FRANCE

**ARRIVEE**  
**20 AVR. 2001**  
**CABINET**  
**REGIMBEAU**

Date d'expédition (jour/mois/année) 12 avril 2001 (12.04.01)		
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 341355/18208		AVIS IMPORTANT
Demande internationale no PCT/FR00/02766	Date du dépôt international (jour/mois/année) 05 octobre 2000 (05.10.00)	Date de priorité (jour/mois/année) 05 octobre 1999 (05.10.99)
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) etc		

1. Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:  
AU, KP, KR, US

Conformément à la règle 47.1 c), troisième phrase, ces offices acceptent le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.

2. Les offices désignés suivants ont renoncé à l'exigence selon laquelle cette communication doit être effectuée à cette date:  
AE, AG, AL, AM, AP, AT, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EA, EE, EP, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OA, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU,  
La communication sera effectuée seulement sur demande de ces offices. De plus, le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale aux offices en question (règle 49.1a-bis)).
3. Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 12 avril 2001 (12.04.01) sous le numéro WO 01/24804

### RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la demande d'examen préliminaire international doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

### RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT IB 301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé J. Zahra
no de télécopieur (41-22) 740.14.35	no de téléphone (41-22) 338.83.38



## TRAITE DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS

PCT

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

NOTIFICATION RELATIVE  
A LA PRESENTATION OU A LA TRANSMISSION  
DU DOCUMENT DE PRIORITE

(instruction administrative 411 du PCT)

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques  
Cabinet Regimbeau  
26, avenue Kléber  
F-75116 Paris  
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année) 01 décembre 2000 (01.12.00)	<b>NOTIFICATION IMPORTANTE</b>
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 341355/18208	
Demande internationale no PCT/FR00/02766	
Date de publication internationale (jour/mois/année) Pas encore publiée	
Date du dépôt international (jour/mois/année) 05 octobre 2000 (05.10.00)	
Date de priorité (jour/mois/année) 05 octobre 1999 (05.10.99)	
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) etc	

- La date de réception (sauf lorsque les lettres "NR" figurent dans la colonne de droite) par le Bureau international du ou des documents de priorité correspondant à la ou aux demandes énumérées ci-après est notifiée au déposant. Sauf indication contraire consistant en un astérisque figurant à côté d'une date de réception, ou les lettres "NR", dans la colonne de droite, le document de priorité en question a été présenté ou transmis au Bureau international d'une manière conforme à la règle 17.1.a) ou b).
- Ce formulaire met à jour et remplace toute notification relative à la présentation ou à la transmission du document de priorité qui a été envoyée précédemment.
- Un **astérisque(\*)** figurant à côté d'une date de réception dans la colonne de droite signale un document de priorité présenté ou transmis au Bureau international mais de manière non conforme à la règle 17.1.a) ou b). Dans ce cas, **l'attention du déposant est appelée** sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.
- Les **lettres "NR"** figurant dans la colonne de droite signalent un document de priorité que le Bureau international n'a pas reçu ou que le déposant n'a pas demandé à l'office récepteur de préparer et de transmettre au Bureau international, conformément à la règle 17.1.a) ou b), respectivement. Dans ce cas, **l'attention du déposant est appelée** sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

<u>Date de priorité</u>	<u>Demande de priorité n°</u>	<u>Pays, office régional ou</u> <u>office récepteur selon le PCT</u>	<u>Date de réception du</u> <u>document de priorité</u>
05 octo 1999 (05.10.99)	99/12409	FR	27 nove 2000 (27.11.00)

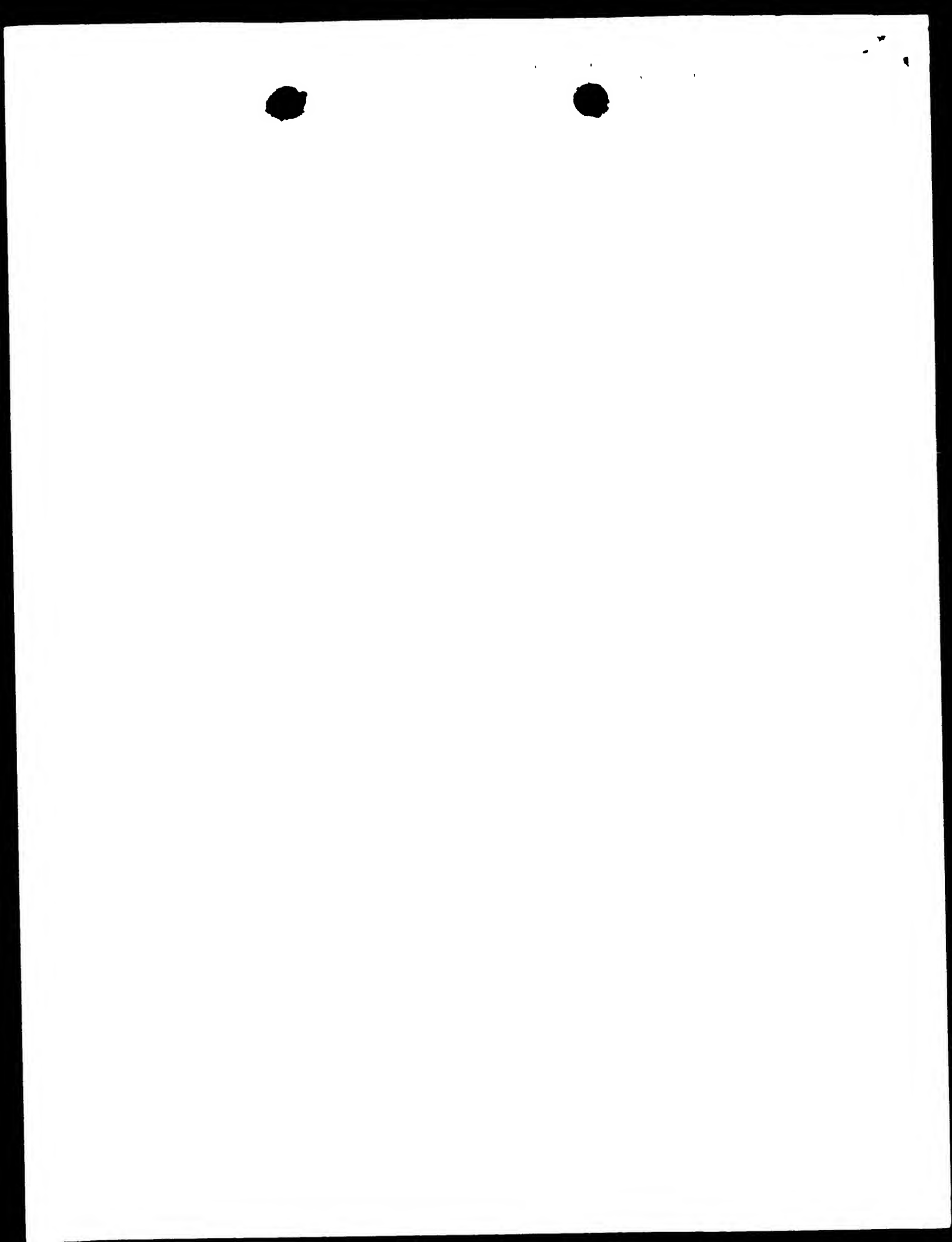
Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé:

Somsak Thiphrakesone

no de téléphone (41-22) 338.83.38



## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT  
D'UN CHANGEMENT(règle 92bis.1 et  
instruction administrative 422 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques  
Cabinet Regimbeau  
20 rue de Chazelles  
F-75847 Paris Cedex 17  
FRANCE

ARRIVEE

23 AVR. 2001

NOTIFICATION IMPORTANTE  
REGIMBEAU

Date d'expédition (jour/mois/année) 12 avril 2001 (12.04.01)	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 341355/18208	
Demande internationale no PCT/FR00/02766	Date du dépôt international (jour/mois/année) 05 octobre 2000 (05.10.00)

## 1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne:

☒ le déposant    ☒ l'inventeur    ☐ le mandataire    ☐ le représentant commun

Nom et adresse LOPEZ, Evelyne 23, avenue de la Boudonnais F-75007 Paris FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	no de téléphone	
	no de télécopieur	
	no de téléimprimeur	

## 2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne:

☐ la personne    ☐ le nom    ☒ l'adresse    ☐ la nationalité    ☐ le domicile

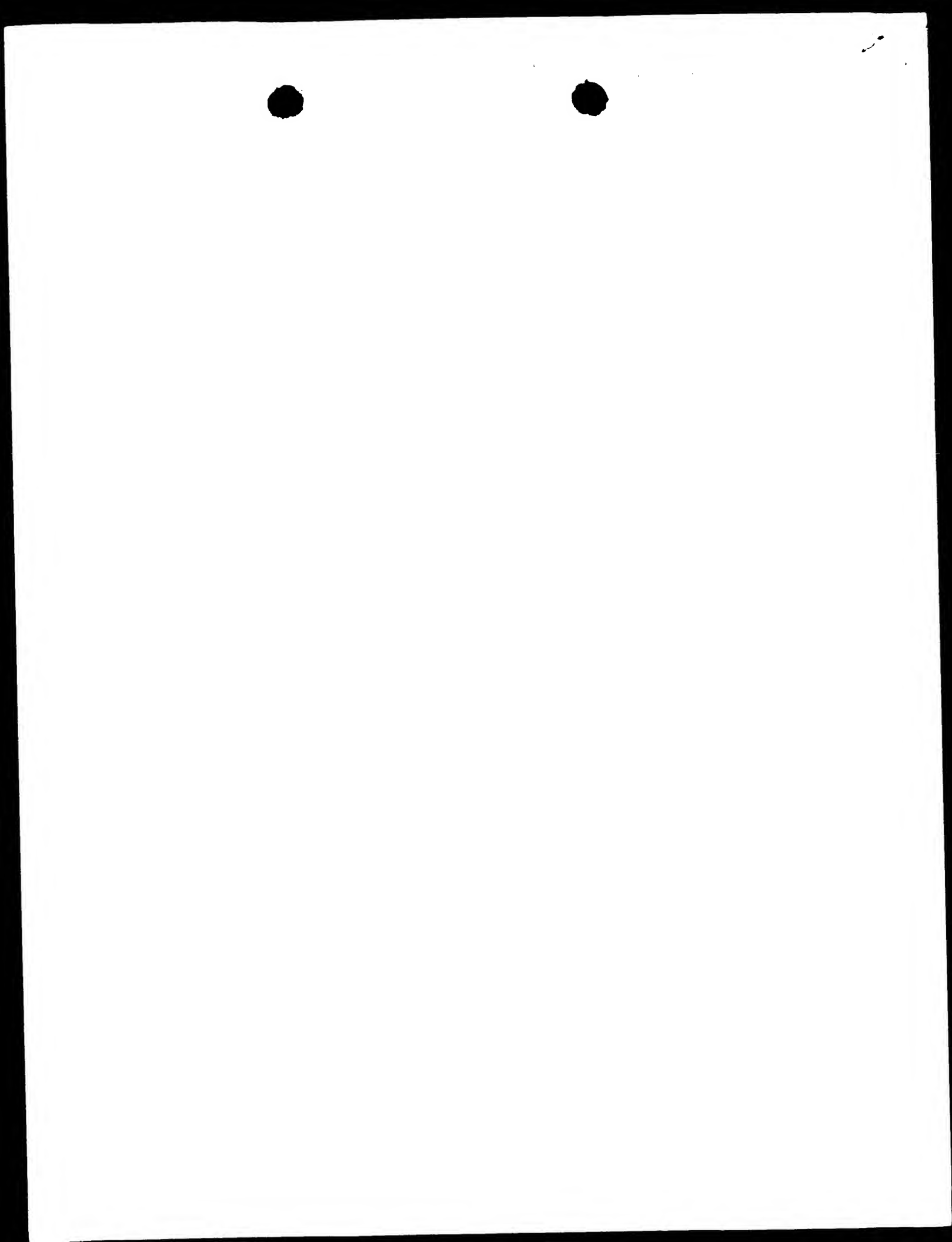
Nom et adresse LOPEZ, Evelyne 23, avenue de la Bourdonnais F-75007 Paris FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	no de téléphone	
	no de télécopieur	
	no de téléimprimeur	

## 3. Observations complémentaires, le cas échéant:

## 4. Une copie de cette notification a été envoyée:

☒ à l'office récepteur    ☐ aux offices désignés concernés  
☐ à l'administration chargée de la recherche internationale    ☐ aux offices élus concernés  
☐ à l'administration chargée de l'examen préliminaire international    ☐ autre destinataire:

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé: Anman QIU <i>liu</i>
no de télécopieur (41-22) 740.14.35	no de téléphone (41-22) 338.83.38



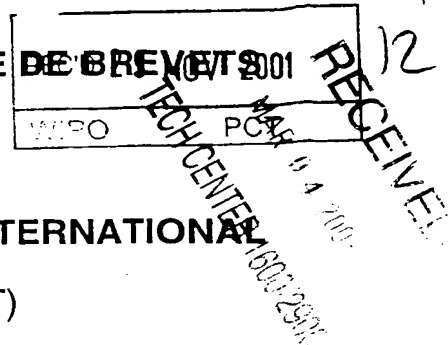
## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE

DE BREVETS

## PCT

## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)





Référence du dossier du déposant ou du mandataire 341355/18208	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR00/02766	Date du dépôt international (jour/mois/année) 05/10/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 05/10/1999
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A61K35/56		
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIF... et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 4 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
- ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 02/05/2001	Date d'achèvement du présent rapport 27.11.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Smetankine, L N° de téléphone +49 89 2399 8466 

# RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

## I. Base du rapport

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

### Description, pages:

1-27                      version initiale

### Revendications, N°:

1-30                      version initiale

### Dessins, feuilles:

1/15-15/15              version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :



**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

- ☐ de la description, pages :  
☐ des revendications, n° :  
☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

*(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)*

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications 1-30
	Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 1-30
	Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-30
	Non : Revendications

2. Citations et explications  
voir feuille séparée

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :  
voir feuille séparée

**RAPPORT D'EXAMEN**

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

**PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPARÉE**

---

**POINT VIII:**

La composition dont il est question dans les revendications 1-30 n'est pas définie.  
Par conséquent les revendications 1-30 ne sont pas claires.

**POINT V:**

Une fois que l'objet des revendications serait défini ( cf. explications ci - dessus au point VIII ), il semblerait que les revendications 1 -30 seraient nouvelles et inventives au vu de l'art antérieur.

PCT

REQUÊTE

Le soussigné requiert que la présente demande internationale soit traitée conformément au Traité de coopération en matière de brevets

Réserve à l'office récepteur

Demande internationale n°

Date du dépôt international

Nom de l'office récepteur et "Demande internationale PCT"

Référence du dossier du déposant ou du mandataire (facultatif)  
(12 caractères au maximum) 341355/18208

Cadre n° I TITRE DE L'INVENTION PROCEDE DE PREPARATION D'UNE COMPOSITION PAR EXTRACTION DE NACRE, COMPRENANT L'INTEGRALITE DES COMPOSANTS DE LA NACRE, COMPOSITION OBTENUE PAR CE PROCEDE ET SON UTILISATION EN COSMETIQUE ET DERMATOLOGIE

Cadre n° II DÉPOSANT

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom, pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)  
3 Rue Michel Ange  
75794 PARIS CEDEX 16  
FRANCE

☐ Cette personne est aussi inventeur

n° de téléphone

n° de télécopieur

n° de téléimprimeur

Nationalité (nom de l'Etat)

FR

Domicile (nom de l'Etat)

FR

Cette personne est déposant pour :

☐ tous les Etats désignés

☒ tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique

☐ les Etats-Unis d'Amérique seulement

☐ les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire

Cadre n° III AUTRE(S) DÉPOSANT(S) OU (AUTRE(S)) INVENTEUR(S)

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom, pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)

LOPEZ Evelynne  
23 Avenue de la Bourdonnais  
75007 PARIS  
FRANCE

Cette personne est

☐ déposant seulement

☒ déposant et inventeur

☐ inventeur seulement  
(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite)

Nationalité (nom de l'Etat)

FR

Domicile (nom de l'Etat)

FR

Cette personne est déposant pour :

☐ tous les Etats désignés

☐ tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique

☒ les Etats-Unis d'Amérique seulement

☐ les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire

☒ D'autres déposants ou inventeurs sont indiqués sur une feuille annexe

Cadre n° IV MANDATAIRE OU REPRÉSENTANT COMMUN; OU ADRESSE POUR LA CORRESPONDANCE

La personne dont l'identité est donnée ci-dessous est-elle désignée pour agir au nom du ou des déposant(s) auprès des autorités internationales compétentes, comme :

☒ mandataire

☐ représentant commun

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom, pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

MARTIN Jean-Jacques, SCHRIMPF Robert, AHNER Francis,  
WARCOIN Jacques, TEXIER Christian, LE FORESTIER Eric  
CALLON de LAMARCK Jean-Robert  
CABINET REGIMBEAU  
20 Rue de Chazelles  
75847 PARIS CEDEX 17 - FRANCE

n° de téléphone

01 44 29 35 00

n° de télécopieur

01 44 29 35 99

n° de téléimprimeur

☐ Adresse pour la correspondance : cocher cette case lorsque aucun mandataire ni représentant commun n'est ni a été désigné et que l'espace ci-dessus est utilisé pour indiquer une adresse spéciale à laquelle la correspondance doit être envoyée



Suite du cadre n° III AUTRE(S) DÉPOSANT(S) OU (AUTRE(S)) INVENTEUR(S)	
<i>Si aucun des sous-cadres suivants n'est utilisé, cette feuille ne doit pas être incluse dans la requête.</i>	
Nom et adresse. (Nom de famille suivi du prénom pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous)  CHEMOUNI Alfred, Edouard 27 Rue de la Villette 75019 PARIS FRANCE	Cette personne est <input type="checkbox"/> déposant seulement <input checked="" type="checkbox"/> déposant et inventeur <input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i>
Nationalité (nom de l'Etat): FR	Domicile (nom de l'Etat): FR
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input checked="" type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
Nom et adresse. (Nom de famille suivi du prénom pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous)	Cette personne est : <input type="checkbox"/> déposant seulement <input type="checkbox"/> déposant et inventeur <input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i>
Nationalité (nom de l'Etat):	Domicile (nom de l'Etat):
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
Nom et adresse. (Nom de famille suivi du prénom pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous)	Cette personne est : <input type="checkbox"/> déposant seulement <input type="checkbox"/> déposant et inventeur <input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i>
Nationalité (nom de l'Etat):	Domicile (nom de l'Etat):
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
Nom et adresse. (Nom de famille suivi du prénom pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous)	Cette personne est : <input type="checkbox"/> déposant seulement <input type="checkbox"/> déposant et inventeur <input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i>
Nationalité (nom de l'Etat):	Domicile (nom de l'Etat):
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
<input type="checkbox"/> D'autres déposants ou inventeurs sont indiqués sur une autre feuille annexe	



## Cadre n° V DÉSIGNATION D'ÉTAT

Les désignations suivantes sont faites conformément à la règle 4.9 a) (cocher les cases appropriées, une au moins doit l'être)

## Brevet régional

- ☒ **AP** Brevet ARIPO : GH Ghana, GM Gambie, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Soudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, TZ République-Unie de Tanzanie, UG Ouganda, ZW Zimbabwe et tout autre État qui est un État contractant du Protocole de Harare et du PCT
- ☒ **EA** Brevet eurasiatique : AM Arménie, AZ Azerbaïdjan, BY Bélarus, KG Kirghizistan, KZ Kazakhstan, MD République de Moldova, RU Fédération de Russie, TJ Tadjikistan, TM Turkménistan et tout autre État qui est un État contractant de la Convention sur le brevet eurasiatique et du PCT
- ☒ **EP** Brevet européen : AT Autriche, BE Belgique, CH et LI Suisse et Liechtenstein, CY Chypre, DE Allemagne, DK Danemark, ES Espagne, FI Finlande, FR France, GB Royaume-Uni, GR Grèce, IE Irlande, IT Italie, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Pays-Bas, PT Portugal, SE Suède et tout autre État qui est un État contractant de la Convention sur le brevet européen et du PCT
- ☒ **OA** Brevet OAPI : BF Burkina Faso, BJ Bénin, CF République centrafricaine, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroun, GA Gabon, GN Guinée, GW Guinée-Bissau, ML Mali, MR Mauritanie, NE Niger, SN Sénégal, TD Tchad, TG Togo et tout autre État qui est un État membre de l'OAPI et un État contractant du PCT (si une autre forme de protection ou de traitement est souhaitée, le préciser sur la ligne pointillée) :

Brevet national (si une autre forme de protection ou de traitement est souhaitée, le préciser sur la ligne pointillée) :

- |  |   |
|--|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>AE</b> Émirats arabes unis                        | <input checked="" type="checkbox"/> <b>LR</b> Liberia                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>AL</b> Albanie                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>LS</b> Lesotho                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>AM</b> Arménie                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>LT</b> Lituanie                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>AT</b> Autriche                                   | <input checked="" type="checkbox"/> <b>LU</b> Luxembourg                            |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>AU</b> Australie                                  | <input checked="" type="checkbox"/> <b>LV</b> Lettonie                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>AZ</b> Azerbaïdjan                                | <input checked="" type="checkbox"/> <b>MA</b> Maroc                                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>BA</b> Bosnie-Herzégovine                         | <input checked="" type="checkbox"/> <b>MD</b> République de Moldova                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>BB</b> Barbade                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>MG</b> Madagascar                            |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>BG</b> Bulgarie                                   | <input checked="" type="checkbox"/> <b>MK</b> Ex-République yougoslave de Macédoine |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>BR</b> Brésil                                     | <input checked="" type="checkbox"/> <b>MN</b> Mongolie                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>BY</b> Bélarus                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>MW</b> Malawi                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>CA</b> Canada                                     | <input checked="" type="checkbox"/> <b>MX</b> Mexique                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>CH et LI</b> Suisse et Liechtenstein              | <input checked="" type="checkbox"/> <b>NO</b> Norvège                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>CN</b> Chine                                      | <input checked="" type="checkbox"/> <b>NZ</b> Nouvelle-Zélande                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>CR</b> Costa Rica                                 | <input checked="" type="checkbox"/> <b>PL</b> Pologne                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>CU</b> Cuba                                       | <input checked="" type="checkbox"/> <b>PT</b> Portugal                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>CZ</b> République tchèque                         | <input checked="" type="checkbox"/> <b>RO</b> Roumanie                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>DE</b> Allemagne                                  | <input checked="" type="checkbox"/> <b>RU</b> Fédération de Russie                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>DK</b> Danemark                                   | <input checked="" type="checkbox"/> <b>SD</b> Soudan                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>DM</b> Dominique                                  | <input checked="" type="checkbox"/> <b>SE</b> Suède                                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>EE</b> Estonie                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>SG</b> Singapour                             |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>ES</b> Espagne                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>SI</b> Slovénie                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>FI</b> Finlande                                   | <input checked="" type="checkbox"/> <b>SK</b> Slovaquie                             |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>GB</b> Royaume-Uni                                | <input checked="" type="checkbox"/> <b>SL</b> Sierra Leone                          |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>GD</b> Grenade                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>TJ</b> Tadjikistan                           |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>GE</b> Géorgie                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>TM</b> Turkménistan                          |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>GH</b> Ghana                                      | <input checked="" type="checkbox"/> <b>TR</b> Turquie                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>GM</b> Gambie                                     | <input checked="" type="checkbox"/> <b>TT</b> Trinité-et-Tobago                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>HR</b> Croatie                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>TZ</b> République-Unie de Tanzanie           |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>HU</b> Hongrie                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>UA</b> Ukraine                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>ID</b> Indonésie                                  | <input checked="" type="checkbox"/> <b>UG</b> Ouganda                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>IL</b> Israël                                     | <input checked="" type="checkbox"/> <b>US</b> États-Unis d'Amérique                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>IN</b> Inde                                       |   |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>IS</b> Islande                                    | <input checked="" type="checkbox"/> <b>UZ</b> Ouzbékistan                           |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>JP</b> Japon                                      | <input checked="" type="checkbox"/> <b>VN</b> Viet Nam                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>KE</b> Kenya                                      | <input checked="" type="checkbox"/> <b>YU</b> Yougoslavie                           |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>KG</b> Kirghizistan                               | <input checked="" type="checkbox"/> <b>ZA</b> Afrique du Sud                        |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>KP</b> République populaire démocratique de Corée | <input checked="" type="checkbox"/> <b>ZW</b> Zimbabwe                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>KR</b> République de Corée                        |   |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>KZ</b> Kazakhstan                                 |   |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>LC</b> Sainte-Lucie                               |   |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>LK</b> Sri Lanka                                  |   |

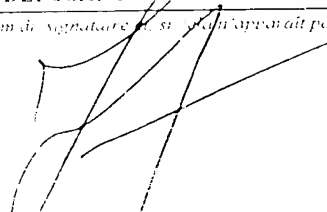
Cases réservées pour la désignation d'États qui sont devenus parties au PCT après la publication de la présente feuille

- ☒ **DZ** Algérie ☒ **MZ** Mozambique  
☒ **AG** Antigua et Barbuda ☒ **BZ** Belize

Déclaration concernant les désignations de précaution : outre les désignations faites ci-dessus, le déposant fait aussi conformément à la règle 4.9 b) toutes les désignations qui seraient autorisées en vertu du PCT, à l'exception de toute désignation indiquée dans le cadre supplémentaire comme étant exclue de la portée de cette déclaration. Le déposant déclare que ces désignations additionnelles sont faites sous réserve de confirmation et que toute désignation qui n'est pas confirmée avant l'expiration d'un délai de 15 mois à compter de la date de priorité doit être considérée comme retirée par le déposant à l'expiration de ce délai. (La confirmation (y compris les taxes) doit parvenir à l'office récepteur dans le délai de 15 mois)





Cadre n° VI REVENDEICATION DE PRIORITÉ		<input type="checkbox"/> D'autres revendications de priorité sont indiquées dans le cadre supplémentaire		
Date de dépôt de la demande antérieure (jour mois année)	Numéro de la demande antérieure	Lorsque la demande antérieure est une		
		demande nationale par pays	demande régionale * office régional	demande internationale office receveur
(1) 05/10/99	99 12409	FRANCE		
(2)				
(3)				
<input checked="" type="checkbox"/> L'office receveur est prié de préparer et de transmettre au Bureau international une copie certifiée conforme de la ou des demandes antérieures (seulement si la demande antérieure a été déposée auprès de l'office qui, aux fins de la présente demande internationale, est l'office receveur) indiquées ci-dessus au(x) point(s) <b>VI</b>				
<small>* Si la demande antérieure est une demande PCT, il est obligatoire d'indiquer dans le cadre supplémentaire au moins un pays partie à la Convention de Paris pour la protection de la propriété industrielle pour lequel une demande antérieure a été déposée (régie + l'union). Voir le cadre supplémentaire.</small>				
Cadre n° VII ADMINISTRATION CHARGÉE DE LA RECHERCHE INTERNATIONALE				
Choix de l'administration chargée de la recherche internationale (ISA) (si plusieurs administrations chargées de la recherche internationale sont compétentes pour procéder à la recherche internationale, indiquer l'administration choisie. Le code à deux lettres peut être utilisé)		Demande d'utilisation des résultats d'une recherche antérieure: mention de cette recherche (si une recherche antérieure a été effectuée par l'administration chargée de la recherche internationale ou demandée à cette dernière)		
ISA / EP		Date (jour mois année)	Numéro	Pays ou office régional
		09/08/2000	FA 579253	OEB
Cadre n° VIII BORDEREAU: LANGUE DE DÉPÔT				
La présente demande internationale contient le nombre de feuilles suivant:		Le ou les éléments coché(s) ci-après sont joints à la présente demande internationale		
requête	4	1 <input type="checkbox"/> Feuille de calcul des taxes		
description (sauf partie réservée au listage des séquences)	27	2 <input type="checkbox"/> pouvoir distinct signe <b>à suivre (2)</b>		
revendications	4	3 <input type="checkbox"/> copie du pouvoir général, numéro de référence, le cas échéant		
abrége	1	4 <input type="checkbox"/> explication de l'absence d'une signature		
dessins	15	5 <input checked="" type="checkbox"/> document(s) de priorité indiqués dans le cadre n° VI aux point(s)		
partie de la description réservée au listage des séquences		6 <input type="checkbox"/> traduction de la demande internationale en (langue)		
Nombre total de feuilles	51	7 <input type="checkbox"/> indications séparées concernant des micro-organismes ou autre matériel biologique déposé		
		8 <input type="checkbox"/> listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés sous forme déchiffrable par ordinateur		
		9 <input checked="" type="checkbox"/> autres éléments (préciser) <b>Copie du Rapport de Recherche</b>		
Figure des dessins qui doit accompagner l'abrége		Langue de dépôt de la demande internationale Français		
Cadre n° IX SIGNATURE DU DEPOSANT OU DU MANDATAIRE				
L'acte de chaque signature indiquer le nom du signataire et si celui-ci n'apparaît pas clairement à la lecture de la requête, à quel titre l'intéressé signe				
WARCOIN Jacques		 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> <b>CABINET REGIMBEAU</b>          CONSEILS EN PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE          26, Avenue Kléber          75116 PARIS FRANCE       </div>		
Reserve à l'Office receveur				
1 Date effective de réception des pièces supposées constituer la demande internationale		2 Dessins		
3 Date effective de réception, rectifiée en raison de la réception ultérieure, mais dans les délais, de documents ou de dessins complétant ce qui est supposé constituer la demande internationale		<input type="checkbox"/> reçus <input type="checkbox"/> non reçus		
4 Date de réception, dans les délais, des corrections demandées selon l'article 11(2) du PCT				
5 Administration chargée de la recherche internationale (si plusieurs sont compétentes) ISA		6 <input type="checkbox"/> Transmission de la copie de recherche différée jusqu'au paiement de la taxe de recherche		
Reserve au Bureau international				
Date de réception de l'exemplaire original par le Bureau international				



## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



Référence du dossier du déposant ou du mandataire 341355/18208	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR00/02766	Date du dépôt international (jour/mois/année) 05/10/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 05/10/1999
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A61K35/56		
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIF... et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 4 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
- ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 02/05/2001	Date d'achèvement du présent rapport 27.11.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Smetankine, L N° de téléphone +49 89 2399 8466 



**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

**I. Base du rapport**

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

**Description, pages:**

1-27                      version initiale

**Revendications, N°:**

1-30                      version initiale

**Dessins, feuilles:**

1/15-15/15              version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :



**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

- ☐ de la description, pages :  
☐ des revendications, n° :  
☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

*(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)*

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-30 Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 1-30 Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-30 Non : Revendications

2. Citations et explications  
**voir feuille séparée**

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :  
**voir feuille séparée**





**POINT VIII:**

La composition dont il est question dans les revendications 1-30 n'est pas définie.  
Par conséquent les revendications 1-30 ne sont pas claires.

**POINT V:**

Une fois que l'objet des revendications serait défini ( cf. explications ci - dessus au point VIII ), il semblerait que les revendications 1 -30 seraient nouvelles et inventives au vu de l'art antérieur.



# PATENT COOPERATION TREATY

From the  
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

MARTIN, Jean-Jacques  
Cabinet Regimbeau  
20, rue de Chazelles  
F-75847 Paris Cedex 17  
FRANCE

[stamp]

## PCT

### NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing (day/month/year)	27.11.2001
-------------------------------------	------------

Applicant's or agent's file reference 341355/18208	IMPORTANT NOTIFICATION
---	------------------------

International application No. PCT/FR00/02766	International filing date (day/month/year) 05/10/2000	Priority date (day/month/year) 05/10/1999
---	--	--

Applicant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIF ... et al.
--

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the International preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

Name and mailing address of the IPEA/

Authorized officer:



European Patent Office  
D-80298 Munich  
Tel. + 49-89 2399-0, Tx: 523656 epmu d  
Fax: + 49-89 2399-4465

Hundt, D

Tel. +49 89 2399-8042





# PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

### INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or Agent's file reference 341355/18208	<b>FOR FURTHER ACTION</b>		See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/FR00/02766	International filing date (day/month/year) 05/10/2000	Priority date (day/month/year) 05/10/1999	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K35/56			
Applicant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIF ... et al.			

1.	This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2.	<p>This REPORT consists of a total of 4 sheets including this title page.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Instruction 607 of Administrative Instructions of the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of                  sheets.</p>
3.	<p>This report contains indications relating to the following items:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>I    <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</li> <li>II   <input type="checkbox"/> Priority</li> <li>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</li> <li>IV   <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</li> <li>V    <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement according to Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</li> <li>VI   <input type="checkbox"/> Certain documents cited</li> <li>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</li> <li>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</li> </ul>

Date of submission of the demand 02/05/2001	Date of completion of this report 27.11.2001
<p><b>Name and mailing address of the IPEA/</b></p> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div> <p>European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399-0. Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399-4465</p> </div> </div>	<p><b>Authorized officer:</b></p> <p>Smetankine, L</p> <p>Telephone No. +49 89 2399 8466</p> <div style="text-align: right;"> </div>



**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/FR00/02766

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn up on the basis of the following elements *(the replacement sheets received by the receiving office in response to an invitation according to Article 14 are considered in the present report as "originally filed" and are not annexed to the report as they contain no amendments (Rules 70.16 and 70.17).):*

**Description, pages:**

1-27 as originally filed

**Claims, No.:**

1-30 as originally filed

**Drawings, sheets:**

1/15-15/15 as originally filed

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.





**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/FR00/02766

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/fig

5. ☐ This report has been written disregarding (some of) the amendments, which were considered as going beyond the description of the invention, as filed, as is indicated below (Rule 70.2(c)):

*(All replacement sheets comprising amendments of this nature should be indicated in point 1 and attached to this report).*

6. Additional observations, if necessary:

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

1. Statement

Novelty	Yes:	Claims	1-30
	No:	Claims	
Inventive Step	Yes:	Claims	1-30
	No:	Claims	
Industrial Applicability	Yes:	Claims	1-30
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**VIII. Certain observations in the international application**

The following observations on the clarity of the claims, descriptions, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet



**POINT VIII:**

The composition to which claims 1-30 refer is not defined. Consequently, claims 1-30 are not clear.

**POINT V:**

Once the subject matter of the claims has been defined (cf. explanations above in point VIII), it would appear that claims 1-30 will be novel and inventive in view of the prior art.



## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE BREVETS

PCT

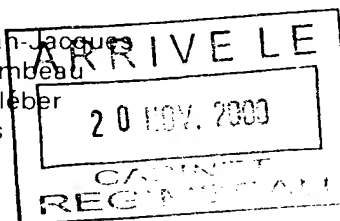
NOTIFICATION DE LA RECEPTION DE  
L'EXEMPLAIRE ORIGINAL

(règle 24.2.a) du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques  
Cabinet Régimbeau  
26, avenue Kléber  
F-75116 Paris  
FRANCE



<b>Date d'expédition</b> (jour/mois/année) 08 novembre 2000 (08.11.00)	<b>NOTIFICATION IMPORTANTE</b>
<b>Référence du dossier du déposant ou du mandataire</b> 341355/18208	<b>Demande internationale no</b> PCT/FR00/02766

Il est notifié au déposant que le Bureau international a reçu l'exemplaire original de la demande internationale précisée ci-après.

Nom(s) du ou des déposants et de l'Etat ou des Etats pour lesquels ils sont déposants:

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) (pour tous les Etats désignés sauf US)

LOPEZ, Evelynne etc. (pour US seulement)

Date du dépôt international : 05 octobre 2000 (05.10.00)

Date(s) de priorité revendiquée(s) : 05 octobre 1999 (05.10.99)

Date de réception de l'exemplaire original par le Bureau international : 30 octobre 2000 (30.10.00)

Liste des offices désignés :

AP : GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW

EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM

EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE

OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG

National : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE,

ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,

MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US,

UZ, VN, YU, ZA, ZW

Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

n° de télécopieur (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

L. Homero Hernandez

n° de téléphone (41-22) 338.83.38



**RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LES DELAIS DANS LESQUELS DOIT ETRE ABORDEE  
LA PHASE NATIONALE**

Il est rappelé au déposant qu'il doit aborder la "phase nationale" auprès de chacun des offices désignés indiqués sur la notification de la réception de l'exemplaire original (formulaire PCT IB/301) en payant les taxes nationales et en remettant les traductions, telles qu'elles sont prescrites par les législations nationales.

Le délai d'accomplissement de ces actes de procédure est de **20 MOIS** à compter de la date de priorité ou, pour les Etats désignés qui ont été élus par le déposant dans une demande d'examen préliminaire international ou dans une élection ultérieure, de **30 MOIS** à compter de la date de priorité, à condition que cette élection ait été effectuée avant l'expiration du 19<sup>e</sup> mois à compter de la date de priorité. Certains offices désignés (ou élus) ont fixé des délais qui expirent au-delà de 20 ou 30 mois à compter de la date de priorité. D'autres offices accordent une prolongation des délais ou un délai de grâce, dans certains cas moyennant le paiement d'une taxe supplémentaire.

En plus de ces actes de procédure, le déposant devra dans certains cas satisfaire à d'autres exigences particulières applicables dans certains offices. **Il appartient au déposant** de veiller à remplir en temps voulu les conditions requises pour l'ouverture de la phase nationale. La majorité des offices désignés n'envoient pas de rappel à l'approche de la date limite pour aborder la phase nationale.

**Des informations détaillées concernant les actes de procédure à accomplir pour aborder la phase nationale auprès de chaque office désigné, les délais applicables et la possibilité d'obtenir une prolongation des délais ou un délai de grâce et toutes autres conditions applicables figurent dans le volume II du Guide du déposant du PCT. Les exigences concernant le dépôt d'une demande d'examen préliminaire international sont exposées dans le chapitre IX du volume I du Guide du déposant du PCT.**

GR et ES sont devenues liées par le chapitre II du PCT le 7 septembre 1996 et le 6 septembre 1997, respectivement, et peuvent donc être élues dans une demande d'examen préliminaire international ou dans une élection ultérieure présentée le 7 septembre 1996 (ou à une date postérieure) ou le 6 septembre 1997 (ou à une date postérieure), respectivement, quelle que soit la date de dépôt de la demande internationale (voir le second paragraphe, ci-dessus).

Veuillez noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

**CONFIRMATION DES DESIGNATIONS FAITES PAR MESURE DE PRECAUTION**

Seules les désignations expresses faites dans la requête conformément à la règle 4.9.a) figurent dans la présente notification. Il est important de vérifier si ces désignations ont été faites correctement. Des erreurs dans les désignations peuvent être corrigées lorsque des désignations ont été faites par mesure de précaution en vertu de la règle 4.9.b). Toute désignation ainsi faite peut être confirmée conformément aux dispositions de la règle 4.9.c) avant l'expiration d'un délai de 15 mois à compter de la date de priorité. En l'absence de confirmation, une désignation faite par mesure de précaution sera considérée comme retirée par le déposant. Il ne sera adressé aucun rappel ni invitation. Pour confirmer une désignation, il faut déposer une déclaration précisant l'Etat désigné concerné (avec l'indication de la forme de protection ou de traitement souhaitée) et payer les taxes de désignation et de confirmation. La confirmation doit parvenir à l'office récepteur dans le délai de 15 mois.

**EXIGENCES RELATIVES AUX DOCUMENTS DE PRIORITE**

Pour les déposants qui n'ont pas encore satisfait aux exigences relatives aux documents de priorité, il est rappelé ce qui suit.

Lorsque la priorité d'une demande nationale, régionale ou internationale antérieure est revendiquée, le déposant doit présenter une copie de cette demande antérieure, certifiée conforme par l'administration auprès de laquelle elle a été déposée ("document de priorité"), à l'office récepteur (qui la transmettra au Bureau international) ou directement au Bureau international, avant l'expiration d'un délai de 16 mois à compter de la date de priorité, étant entendu que tout document de priorité peut être présenté au Bureau international avant la date de publication de la demande internationale, auquel cas ce document sera réputé avoir été reçu par le Bureau international le dernier jour du délai de 16 mois (règle 17.1.a)).

Lorsque le document de priorité est délivré par l'office récepteur, le déposant peut, au lieu de présenter ce document, demander à l'office récepteur de le préparer et de le transmettre au Bureau international. La requête à cet effet doit être formulée avant l'expiration du délai de 16 mois et peut être soumise au paiement d'une taxe (règle 17.1.b)).

Si le document de priorité en question n'est pas fourni au Bureau international, ou si la demande adressée à l'office récepteur de préparer et de transmettre le document de priorité n'a pas été faite (et la taxe correspondante acquittée, le cas échéant) avant l'expiration du délai applicable mentionné aux paragraphes précédents, tout Etat désigné peut ne pas tenir compte de la revendication de priorité; toutefois, aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

Lorsque plusieurs priorités sont revendiquées, la date de priorité à prendre en considération aux fins du calcul du délai de 16 mois est la date du dépôt de la demande la plus ancienne dont la priorité est revendiquée.





## Suite du formulaire PCT/IB/301

## NOTIFICATION DE LA RECEPTION DE L'EXEMPLAIRE ORIGINAL

Date d'expédition (jour mois année) 08 novembre 2000 (08.11.00)	NOTIFICATION IMPORTANTE
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 341355/18208	Demande internationale no PCT/FR00/02766

**ATTENTION**

Le déposant doit soigneusement vérifier les indications figurant dans la présente notification. En cas de divergence entre ces indications et celles que contient la demande internationale, il doit aviser immédiatement le Bureau international.

En outre, l'attention du déposant est appelée sur les renseignements donnés dans l'annexe en ce qui concerne

- ☒ les délais dans lesquels doit être abordée la phase nationale
- ☐ la confirmation des désignations faites par mesure de précaution
- ☒ les exigences relatives aux documents de priorité.

Une copie de la présente notification est envoyée à l'office récepteur et à l'administration chargée de la recherche internationale.



# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur: L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques  
Cabinet Regimbeau  
20, rue de Chazelles  
F-75847 Paris Cedex 17  
FRANCE

## PCT

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU  
RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE  
INTERNATIONAL  
(règle 71.1 du PCT)

Date d'expédition  
(jour/mois/année) 27.11.2001

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
341355/18208

### NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale No.  
PCT/FR00/02766

Date du dépôt international (jour/mois/année)  
05/10/2000

Date de priorité (jour/mois/année)  
05/10/1999

Déposant  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIF... et al.

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ces annexes.
2. Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes est transmise au Bureau international pour communication à tous les offices élus.
3. Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau international établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.

#### 4. RAPPEL

Pour aborder la phase nationale auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau international dans le formulaire PCT/IB/301).

Lorsqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen  
préliminaire international



Office européen des brevets  
D-80298 Munich  
Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Fonctionnaire autorisé

Hundt, D

Tél. +49 89 2399-8042





# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE BREVETS

## PCT

### RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



Référence du dossier du déposant ou du mandataire 341355/18208	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR00/02766	Date du dépôt international (jour/mois/année) 05/10/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 05/10/1999
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A61K35/56		
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIF... et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 4 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
  - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 02/05/2001	Date d'achèvement du présent rapport 27.11.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Smetankine, L N de téléphone +49 89 2399 8466 



# RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

## I. Base du rapport

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

### Description, pages:

1-27                      version initiale

### Revendications, N°:

1-30                      version initiale

### Dessins, feuilles:

1/15-15/15              version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :





**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

- ☐ de la description, pages :  
☐ des revendications, n°s :  
☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

*(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)*

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications 1-30
	Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 1-30
	Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-30
	Non : Revendications

2. Citations et explications  
**voir feuille séparée**

**Viii. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :  
**voir feuille séparée**



**RAPPORT D'EXAMEN**  
**PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPARÉE**

---

Demande internationale n° PCT/FR00/02766

**POINT VIII:**

La composition dont il est question dans les revendications 1-30 n'est pas définie.  
Par conséquent les revendications 1-30 ne sont pas claires.

**POINT V:**

Une fois que l'objet des revendications serait défini ( cf. explications ci - dessus au point VIII ), il semblerait que les revendications 1 -30 seraient nouvelles et inventives au vu de l'art antérieur.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 00/02766

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K35/56 A61K7/48 A61P17/00 A61P29/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, EPO-Internal, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
----------	--	----------------------

A	WO 97 24133 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 10 July 1997 (1997-07-10) cited in the application claims -----	1-30
---	--	------

☐ Further documents are listed in the continuation of box C

☒ Patent family members are listed in annex

### \* Special categories of cited documents

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 April 2001

Date of mailing of the international search report

07/05/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040 1x 31 651 epo nl  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ryckebosch, A

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/02766

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9724133 A	10-07-1997	FR 2743075 A	04-07-1997
		AU 1381697 A	28-07-1997
		CA 2254791 A	10-07-1997
		EP 0869805 A	14-10-1998
		JP 2000504314 T	11-04-2000
<hr/>			

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. nationale No  
PCT/FR 00/02766

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**  
CIB 7    A61K35/56    A61K7/48    A61P17/00    A61P29/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7    A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données et si réalisable, termes de recherche utilisés)

WPI Data, EPO-Internal, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 97 24133 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 10 juillet 1997 (1997-07-10) cité dans la demande revendications -----	1-30

☐

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

**\* Catégories spéciales de documents cités**

\*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

\*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

\*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

\*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

\*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

\*X\* document particulièrement pertinent, l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*Y\* document particulièrement pertinent, l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*G\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

27 avril 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

07/05/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040 Tx 31 651 epo nl.  
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Ryckebosch, A

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs à la famille de brevets

Internationale No

PCT/FR 00/02766

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membres(s) de la famille de brevets(s)	Date de publication
WO 9724133 A	10-07-1997	FR 2743075 A	04-07-1997
		AU 1381697 A	28-07-1997
		CA 2254791 A	10-07-1997
		EP 0869805 A	14-10-1998
		JP 2000504314 T	11-04-2000
<hr/>			



# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur : L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
LA RECHERCHE INTERNATIONALE

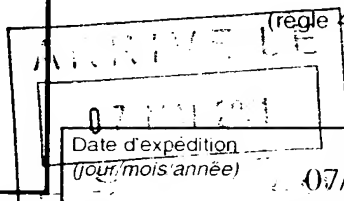
(H.W.)  
Délai 07.07.01  
**PCT**

Destinataire

Cabinet Regimbeau  
A l'att. de MARTIN, Jean-Jacques  
20, Rue de Chazelles  
75847 Paris Cedex 17  
FRANCE

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU  
RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE  
OU DE LA DECLARATION

(règle 44.1 du PCT)



Date d'expédition  
(jour/mois/année)

07/05/2001

Référence du dossier du déposant ou du mandataire

341355/18208

**POUR SUITE A DONNER**

voir les paragraphes 1 et 4 ci-après

Demande internationale n°

PCT/FR 00/ 02766

Date du dépôt international

(jour/mois/année)

05/10/2000

Déposant

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE(CNRS)

1. ☒ Il est notifié au déposant que le rapport de recherche internationale a été établi et lui est transmis ci-joint.

**Dépôt de modifications et d'une déclaration selon l'article 19 :**

Le déposant peut, s'il le souhaite, modifier les revendications de la demande internationale (voir la règle 46):

**Quand?** Le délai dans lequel les modifications doivent être déposées est de deux mois à compter de la date de transmission du rapport de recherche internationale; pour plus de précisions, voir cependant les notes figurant sur la feuille d'accompagnement.

**Où?** Directement auprès du Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse  
n° de télécopieur: (41-22)740.14.35

**Pour des instructions plus détaillées,** voir les notes sur la feuille d'accompagnement.

2. ☐ Il est notifié au déposant qu'il ne sera pas établi de rapport de recherche internationale et la déclaration à cet effet, prévue à l'article 17.2(a), est transmise ci-joint.

3. ☐ **En ce qui concerne la réserve** pouvant être formulée, conformément à la règle 40.2, à l'égard du paiement d'une ou de plusieurs taxes additionnelles, il est notifié au déposant que

☐ la réserve ainsi que la décision y relative ont été transmises au Bureau international en même temps que la requête du déposant tendant à ce que le texte de la réserve et celui de la décision en question soient notifiés aux offices désignés.

☐ la réserve n'a encore fait l'objet d'aucune décision; dès qu'une décision aura été prise, le déposant en sera avisé.

4. **Mesure(s) consécutive(s) :** Il est rappelé au déposant ce qui suit:

Peu après l'expiration d'un délai de **18 mois** à compter de la date de priorité, la demande internationale sera publiée par le Bureau international. Si le déposant souhaite éviter ou différer la publication, il doit faire parvenir au Bureau international une déclaration de retrait de la demande internationale, ou de la revendication de priorité, conformément aux règles 90bis.1 et 90bis.3, respectivement, avant l'achèvement de la préparation technique de la publication internationale.

Dans un délai de **19 mois** à compter de la date de priorité, le déposant doit présenter la demande d'examen préliminaire international s'il souhaite que l'ouverture de la phase nationale soit reportée à 30 mois à compter de la date de priorité (ou même au-delà dans certains offices).

Dans un délai de **20 mois** à compter de la date de priorité, le déposant doit accomplir les démarches prescrites pour l'ouverture de la phase nationale auprès de tous les offices désignés qui n'ont pas été élus dans la demande d'examen préliminaire international ou dans une élection ultérieure avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou qui ne pouvaient pas être élus parce qu'ils ne sont pas liés par le chapitre II.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale



Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Catherine Humbert



# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

### RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>341355/18208</b>	<b>POUR SUITE</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après <b>A DONNER</b>	
Demande internationale n° <b>PCT/FR 00/ 02766</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>05/10/2000</b>	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) <b>05/10/1999</b>
Déposant  <b>CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE(CNRS)</b>		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend — **2** — feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

#### 1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.
- ☐ la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.
- b. En ce qui concerne **les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :
- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

#### 4. En ce qui concerne le **titre**,

- ☐ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.
- ☒ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

**PROCEDE DE PREPARATION D'UNE COMPOSITION PAR EXTRACTION DE NACRE ET SON UTILISATION EN COSMETIQUE ET DERMATOLOGIE**

#### 5. En ce qui concerne l'**abrégé**,

- ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
- ☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

#### 6. La figure **des dessins** à publier avec l'abrégé est la Figure n°

- ☐ suggérée par le déposant.
- ☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
- ☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☒ Aucune des figures n'est à publier.



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PC 7 00/02766

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A61K35/56 A61K7/48 A61P17/00 A61P29/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou a la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultee (systeme de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultee autre que la documentation minimale dans la mesure ou ces documents relevent des domaines sur lesquels a porte la recherche

Base de donnees electronique consultee au cours de la recherche internationale (nom de la base de donnees, et si realisable, termes de recherche utilises)

WPI Data, EPO-Internal, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Categorie *	Identification des documents cites, avec, le cas echeant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visees
A	WO 97 24133 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 10 juillet 1997 (1997-07-10) cite dans la demande revendications -----	1-30

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒

Les documents de familles de brevets sont indiques en annexe

\* Categories speciales de documents cites

\*A\* document definissant l'etat general de la technique, non considere comme particulierement pertinent

\*E\* document anterieur, mais publie a la date de depot international ou apres cette date

\*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorite ou cite pour determiner la date de publication d'une autre citation ou pour une raison speciale (telle qu'indiquee)

\*O\* document se referant a une divulgation orale, a un usage, a une exposition ou tous autres moyens

\*P\* document publie avant la date de depot international, mais posterieurement a la date de priorite revendiquee

\*T\* document ulterieur publie apres la date de depot international ou la date de priorite et n'appartenant pas a l'etat de la technique pertinent, mais cite pour comprendre le principe ou la theorie constituant la base de l'invention

\*X\* document particulierement pertinent, l'invention revendiquee ne peut etre consideree comme nouvelle ou comme impliquant une activite inventive par rapport au document considere isolément

\*Y\* document particulierement pertinent, l'invention revendiquee ne peut etre consideree comme impliquant une activite inventive lorsque le document est associe a un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison etant evidente pour une personne du metier

\*S\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date a laquelle la recherche internationale a ete effectivement achevee

27 avril 2001

Date d'expedition du present rapport de recherche internationale

07/05/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargee de la recherche internationale

Office Europeen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31 - 70) 340-2040, Tx 31 651 epo.nl  
Fax (+31 - 70) 340-3016

Fonctionnaire autorise

Ryckebosch, A



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres des familles de brevets

Demande internationale No

PC 00/02766

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membres(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9724133 A	10-07-1997	FR 2743075 A	04-07-1997
		AU 1381697 A	28-07-1997
		CA 2254791 A	10-07-1997
		EP 0869805 A	14-10-1998
		JP 2000504314 T	11-04-2000
-----			





# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

### RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Reference du dossier du déposant ou du mandataire <b>341355/18208</b>	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après	
Demande internationale n° <b>PCT/FR 00/ 02766</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>05/10/2000</b>	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) <b>05/10/1999</b>

Déposant  <b>CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE(CNRS)</b>
---

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 2 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

**1. Base du rapport**

a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.

☐ la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.

b. En ce qui concerne **les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :

☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.

☐ déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.

☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.

☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.

☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.

☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☐ **Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche** (voir le cadre I).

3. ☐ **Il y a absence d'unité de l'invention** (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le **titre**,

☐ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.

☒ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

**PROCEDE DE PREPARATION D'UNE COMPOSITION PAR EXTRACTION DE NACRE ET SON  
UTILISATION EN COSMETIQUE ET DERMATOLOGIE**

5. En ce qui concerne l'**abrégi**,

☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant

☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure **des dessins** à publier avec l'abrégi est la Figure n°

☐ suggérée par le déposant.

☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.

☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☒ Aucune des figures n'est à publier.



(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
12 avril 2001 (12.04.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 01/24804 A2

(51) Classification internationale des brevets: A61K 35/56

(74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet  
Regimbeau, 20 rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17  
(FR).

(21) Numéro de la demande internationale:

PCT/FR00/02766

(22) Date de dépôt international: 5 octobre 2000 (05.10.2000)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:

99/12409 5 octobre 1999 (05.10.1999) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf l'US):  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794  
Paris Cedex 16 (FR).

(81) États désignés (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional): brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

Sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapport.

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT

(54) Title: METHOD FOR PREPARING A COMPOSITION BY MOTHER-OF-PEARL EXTRACTION, COMPRISING INTEGRALLY MOTHER-OF-PEARL COMPONENTS, COMPOSITION OBTAINED BY SAID METHOD AND USE THEREOF IN COSMETICS AND DERMATOLOGY

(54) Titre: PROCÉDE DE PRÉPARATION D'UNE COMPOSITION PAR EXTRACTION DE NACRE, COMPRENANT L'INTEGRALEMENT DES COMPOSANTS DE LA NACRE, COMPOSITION OBTENUE PAR CE PROCÉDE ET SON UTILISATION EN COSMÉTIQUE ET DERMATOLOGIE

(57) Abstract: The invention concerns a method for preparing a composition, characterised in that it comprises steps which consist in: a) reducing mother-of-pearl into powder with grain size distribution ranging between about 1 and about 300 µm; b) placing the obtained powder in close contact with an extracting agent in the form of a hydroglycol solution of at least a collagen, of at least a proteoglycan or a mixture thereof; then c) in collecting the extraction mixture, formed by the close contact, constituting the desired composition. The invention also concerns the composition obtainable by said method. Said composition has very interesting properties relative to the skin and/or skin appendages, in particular tissue-regenerating properties, enabling for instance improved wound healing, and anti-ageing properties for preventing and/or visibly reducing effects related to skin and/or skin appendage ageing.

(57) Abrégé: La présente invention concerne un procédé de préparation d'une composition, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant: a) à réduire de la nacre en une poudre de granulométrie comprise entre environ 1 et environ 300 µm; b) à mettre la poudre de nacre ainsi obtenue en contact intime avec un agent d'extraction sous la forme d'une solution hydroglycolique d'au moins un collagène, d'au moins un protéoglycane ou d'un mélange de ces derniers; puis c) à récupérer le mélange d'extraction, formé par la mise en contact intime, constituant la composition désirée. La présente invention concerne également la composition susceptible d'être obtenue par ce procédé. Cette composition présente des propriétés très intéressantes vis à vis de la peau et/ou des phanères, notamment des propriétés de régénération tissulaire, permettant par exemple une cicatrisation améliorée, ainsi que des propriétés anti-âge permettant de prévenir et/ou de réduire de manière visible les effets liés au vieillissement de la peau et/ou des phanères.

WO 01/24804 A2



Procédé de préparation d'une composition par extraction de nacre, comprenant l'intégralité des composants de la nacre, composition obtenue par ce procédé et son utilisation en cosmétique et dermatologie.

La présente invention se rapporte à un procédé de préparation d'une composition comprenant l'intégralité des composants de la nacre, au moins un collagène et au moins un protéoglycane, à la composition susceptible d'être obtenue par ce procédé et à l'utilisation de cette dernière tant dans les domaines pharmaceutique que cosmétique, en particulier pour lutter contre les effets du vieillissement cutané et/ou des phanères.

Les mammifères se protègent du milieu extérieur par une barrière constituée par la peau, tissu très structuré, composé de plusieurs couches, mais sensible aux agressions dues aux variations du milieu extracorporel. Cette situation est unique dans le règne animal puisque les poissons et les grenouilles sécrètent du mucus, les oiseaux sont couverts de plumes et les vertébrés submammaliens et mammaliens, sauf les hominidés actuels, sont couverts de poils.

L'être humain a perdu ces attributs protecteurs : il a une peau qu'il faut protéger et qu'il est possible de stimuler afin de l'aider à lutter contre les agressions et le vieillissement.

En particulier, on sait que le vieillissement est un phénomène physiologique qui se traduit notamment par un amincissement de la peau et une perte de l'élasticité, conduisant notamment à l'apparition de rides plus ou moins profonde. On peut également constater un relâchement ou dessèchement superficiel et une pigmentation anarchique.

La peau comprend trois couches : l'épiderme, le derme et, en profondeur, l'hypoderme.

L'enveloppe protectrice la plus externe de la peau, l'épiderme, qui recouvre étroitement le derme, est constituée en surface du stratum corneum. Le stratum corneum est fait de deux couches : le stratum disjunctum en surface dont la particularité est la desquamation et le stratum compactum, le plus profond, qui joue un rôle de barrière. L'épiderme, facile à observer macroscopiquement puisque superficiel, a fait l'objet de nombreuses études. Les réponses connues sont celles entraînées par certains agents du milieu extracorporel ou bien celles résultant d'applications de substances actives



d'origines diverses. Les cellules de l'épiderme résultent de l'activité des cellules de la couche basale qui reposent sur une membrane basale séparant l'épiderme du derme.

Le derme résulte de l'activité biosynthétique des fibroblastes, qui élaborent les constituants de la matrice extracellulaire. Celle-ci est formée de quatre grandes familles  
5 de macromolécules : les collagènes, l'élastine, les glycoprotéines de structure et les protéoglycannes. Le derme a la faculté de répondre aux signaux donnés par l'épiderme qui en réponse envoie également des signaux à l'épiderme. D'une manière générale, il existe des échanges entre ces différentes couches dermiques et épidermiques de la peau, qui sont destinés à assurer le renouvellement cellulaire, la cohésion et l'hydratation des  
10 couches externes.

De nombreux actifs ont été proposés pour prévenir ou retarder les effets du vieillissement.

Parmi ceux-ci, la nacre a été utilisée depuis l'Antiquité en esthétique et dans les pharmacopées traditionnelles. Par ailleurs, la nacre est connue pour ses propriétés  
15 régénératrices des os.

On sait en particulier que la nacre, ou aragonite chonchylifère, est une formation minéralisée biogène; elle est constituée d'une matrice organique de substances fibreuses et non fibreuses représentant environ 1,7 à 2 % de la masse totale (Taylor et al. Bulletin  
20 of the British Museum (Natural history) Zoology.Suppl.3125pp. + 29 Planches, 1969) et de carbonate de calcium cristallisé sous forme orthorhombique, appelé aragonite, associé à des oligo-éléments (sodium, magnésium, lanthane, zinc, brome, césium, fer, manganèse, chlore, cuivre, potassium, calcium, strontium et soufre). Plus particulièrement, la phase organique totale de la nacre se présente sous la forme d'une  
25 matrice organique composée de protéines fibreuses, constituées notamment de collagènes ancestraux dépourvus d'hydroxyproline et d'hydroxylysine, et de protéines non fibreuses. Environ 50% de la matrice organique de la nacre est hydrosoluble (ou "water soluble"). Les 50 % restants ne peuvent être obtenus qu'après décalcification.

Toutefois, les produits de l'art antérieur, obtenus par mélange d'une poudre de nacre avec un excipient ou un diluant inerte, pulvérulent, comme décrit par exemple  
30 dans la demande W0 97/23231, provoquent des phénomènes indésirables d'irritation de la peau, dus la présence de la nacre sous forme de poudre (en particulier de son composant majoritaire, l'aragonite ou  $\text{CaCO}_3$ ). La teneur en poudre de nacre dans ces





produits doit donc impérativement être très limitée pour éviter ces phénomènes d'irritation. Ces phénomènes indésirables d'irritation ont notamment pour origine le pH trop basique de ces produits connus, au contact de la peau. En outre, les produits connus à base de poudre de nacre présentent des problèmes spécifiques de formulations, notamment de stabilité (ruptures d'émulsions) et d'ajustement du pH à une valeur moins basique.

Par ailleurs, la demande WO 97/24133 décrit un procédé de préparation de substances biologiquement actives à partir de la nacre, par mise en contact d'une poudre de nacre avec un solvant aqueux choisi parmi l'eau pure, bidistillée ou apyrogène, éventuellement additionné de sels, dans lequel on sépare ensuite la fraction hydrosoluble de façon à ne récupérer que la fraction aqueuse, essentiellement donc dépourvue des constituants minéraux et de la phase organique non hydrosoluble de la nacre. Ce procédé ne peut donc permettre en particulier la préparation d'une composition comprenant notamment l'intégralité des composants de la nacre, en particulier la phase organique totale de la nacre.

On a maintenant constaté de manière tout à fait surprenante et inattendue que la mise en oeuvre d'un procédé spécifique permet d'obtenir une composition nouvelle, comprenant non seulement l'intégralité des composants de la nacre mais aussi une association avantageuse de ces derniers avec certains composés qui permettent au moins de potentialiser l'activité des composants de la nacre, sinon de fournir un effet de synergie, en vue notamment de prévenir et / ou de réduire de manière visible les effets liés au vieillissement de la peau et/ou des phanères.

La présente invention a ainsi pour objet un procédé de préparation d'une composition, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant :

a) à réduire de la nacre en une poudre de granulométrie comprise entre environ 1 et environ 300  $\mu\text{m}$ ;

b) à mettre la poudre de nacre ainsi obtenue en contact intime avec un agent d'extraction sous la forme d'une solution hydroglycolique d'au moins un collagène, d'au moins un protéoglycane ou d'un mélange de ces derniers; puis

c) à récupérer le mélange d'extraction, formé par la mise en contact intime, constituant la composition désirée.



Le présent procédé permet d'obtenir une composition sous la forme du mélange d'extraction obtenu à l'étape b).

La nacre utilisée pour la mise en oeuvre du procédé selon l'invention peut être obtenue à partir de coquilles de mollusques nacriers et de certains céphalopodes (par exemple le nautilus). En particulier, on l'obtient à partir d'huîtres telles que *Pinctada maxima*.

On utilise la nacre brute, débarrassée des autres éléments de coquille riches en polysaccharides et calcite. De préférence, on part de nacre blanche, sinon il faut prévoir une étape d'élimination des pigments qui peuvent provoquer des intolérances.

Il s'agit d'une matière première aisément disponible, dont l'utilisation n'a pas d'impact écologique négatif sur les populations naturelles. En effet, la plupart de ces huîtres ou autres mollusques nacriers font l'objet d'une aquaculture.

De plus, un avantage supplémentaire est donné par le fait que la matière première peut être obtenue à partir de coquilles d'huîtres ayant produit des perles ; en effet, une huître perlière est éliminée du pool productif après avoir produit successivement au maximum 3 perles, alors qu'elle possède une épaisse couche de nacre de qualité excellente (grade A). La présente invention propose donc un débouché supplémentaire pour une utilisation de la nacre en aval de la perliculture.

La granulométrie de la poudre de nacre utilisée pour la mise en oeuvre du présent procédé est comprise entre environ 1 et environ 300  $\mu\text{m}$ , telle que mesurée avec des moyens classiques à la portée de l'homme du métier, comme la technique de tamisage et/ou la technique à lecture LASER.

Selon un mode de mise en oeuvre particulier du procédé selon l'invention, la nacre est réduite en une poudre de granulométrie comprise entre environ 50 et environ 100  $\mu\text{m}$ .

Selon un autre mode de mise en oeuvre particulier, la nacre est réduite en une poudre de granulométrie comprise entre environ 15 et environ 50  $\mu\text{m}$ , ce qui permet d'améliorer le rendement, en approchant de la taille de l'unité cristalline (par exemple, l'unité élémentaire de la nacre de *Pinctada maxima* est le biocristal, un cristal hexagonal d'aragonite très volumineux de 9 à 12  $\mu\text{m}$ ).



On procède en particulier de la manière suivante pour réduire la nacre en poudre selon l'étape a) du présent procédé.

Dans une première phase, la nacre brute est débarrassée de la partie externe de la coquille (périostracum) par meulage ou tout autre procédé non dénaturant.

- 5 Les plaques de nacre sont ensuite réduites en fragments par concassage afin de pouvoir ensuite procéder à une micronisation. Les fragments destinés à être micronisés ont de préférence une longueur comprise entre environ 2 à environ 5 centimètres et une épaisseur d'environ 0.3 centimètres.

Dans une seconde phase, ces fragments sont micronisés.

- 10 La nacre peut être utilisée sans décontamination préalable. Dans le cas d'une décontamination préalable, on réalise un lavage décontaminant très rapide, sans trempage des fragments, dans une solution d'hypochlorite de sodium à 6,6% de chlore actif (12°). Le séchage doit être fait extemporanément de façon à retirer toute trace d'eau.

- 15 Le meulage doit être réalisé à sec dans des jarres en zirconium réservées exclusivement à cet effet, précédemment lavées (eau javellisée, rinçage, puis lavage à l'eau distillée) et stérilisées à chaud. Le concassage se fait au moyen de billes en zirconium, elles-mêmes stérilisées.

- La stérilisation de la nacre brute réduite en poudre peut être réalisée de deux  
20 façons différentes :

- stérilisation par irradiation aux rayons  $\gamma$  2,5 Mrad;
- stérilisation à chaud pendant 1 à 2 heures dans un autoclave à 100 °C. La nacre n'est dégradée (matrice minérale et matrice organique) qu'à partir d'environ 250 °C ( Balmain, Hannoyer and Lopez, "Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and  
25 X-ray diffraction analyses of mineral and organic matrix during heating of Mother of Pearl (nacre) from the shell of the mollusc Pinetada Maxima", J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.), vol.48(5):749-754, 1999). Cette stérilisation ne détruit donc pas ses différents composants.

- L'étape b) du procédé selon l'invention consiste à mettre la poudre de nacre  
30 décrite ci-dessus en contact intime avec un agent d'extraction sous la forme d'une solution hydroglycolique d'au moins un collagène, d'au moins un proteoglycane ou d'un mélange de ces derniers.



Par "solution hydroglycolique", on entend selon l'invention une solution du collagène et du protéoglycane obtenue en utilisant un solvant hydroglycolique c'est à dire, d'une manière générale, un solvant sous forme d'un mélange d'eau et d'au moins un glycol.

5 Par "glycol", on entend de manière connue tout composé possédant deux fois la fonction alcool. En particulier, le glycol pouvant être utilisé est choisi dans le groupe constitué par l'éthylène glycol, le propylène glycol, le butylène glycol et les mélanges de ces derniers.

10 L'eau pouvant être utilisée pour former le solvant hydroglycolique peut être de l'eau pure, bidistillée, apyrogène, déminéralisée ou encore de l'eau déionisée.

Le rapport pondéral eau:glycol dans le solvant hydroglycolique est de préférence compris entre environ 1 : 100 et environ 100 : 1, et plus particulièrement entre environ 1 : 1 et environ 20 : 1.

15 De préférence, l'agent d'extraction est une solution hydroglycolique d'au moins un collagène.

Le collagène pouvant être utilisé en solution hydroglycolique dans l'agent d'extraction selon l'invention peut être tout collagène constituant la substance intercellulaire du tissu conjonctif, disponible dans le règne animal, connu de l'homme du métier.

20 On utilise tout particulièrement de préférence un collagène marin, c'est à dire un collagène issu d'un organisme d'origine marine tels que les vertébrés marins. En particulier, le collagène marin est le principal constituant des tissus conjonctifs du poisson, où il tient un rôle essentiel dans la structure de la peau, des muscles, des tendons et des ligaments.

25 On peut citer tout particulièrement le collagène marin "PANCogene<sup>®</sup> MARIN", tel que commercialisé par la société Gattefossé (Saint Priest, France), dont la dénomination INCI est "Soluble Collagen" (référencement au Japon : "water soluble collagen"; MHV : 20800CZY0010000). Il s'agit d'un collagène extrait de peaux de poissons d'espèces non protégées des mers chaudes appartenant à la classe des  
30 Téléostéens.

On peut également citer le collagène marin "COLLAGENE NATIF MARIN - Code 690", tel que commercialisé par la société Laboratoire Industriel de Biologie





(Soisy Sous Montmorency, France) dont la dénomination CTFA est "Amino Collagen Amino Acid". Il s'agit d'un collagène acide soluble dans l'eau, extrait des peaux de poissons.

De préférence, on utilise une concentration en collagène comprise entre environ  
5 0,0001 et environ 50 % en poids, et plus particulièrement entre environ 0,01 et environ 15 % en poids, par rapport au poids total de l'agent d'extraction.

L'agent d'extraction est également de préférence une solution hydroglycolique d'au moins un protéoglycane.

Le protéoglycane pouvant être utilisé en solution hydroglycolique dans l'agent  
10 d'extraction selon l'invention peut être tout protéoglycane connu de l'homme du métier, notamment tout protéoglycane non soufré.

En particulier, le protéoglycane est choisi dans le groupe constitué par l'acide hyaluronique, le condroitine sulfate, le dermatane sulfate, l'éparane sulfate, le kératane sulfate et les mélanges de ces derniers.

15 L'acide hyaluronique est tout particulièrement préféré, tel que celui commercialisé par la société Laboratoire Industriel de Biologie (Soisy Sous Montmorency, France).

La concentration en protéoglycane utilisé est de préférence comprise entre environ 0,0001 et environ 40 % en poids, et plus particulièrement entre environ 0,01 et  
20 environ 10 % en poids, par rapport au poids total de l'agent d'extraction.

Bien entendu, l'agent d'extraction peut comprendre en outre tout composé additionnel connu de l'homme du métier, approprié pour l'étape d'extraction elle même ou en vue des utilisations possibles de la composition préparée par le présent procédé, comme celles décrites ci-après. L'agent d'extraction peut ainsi par exemple comprendre  
25 en outre des agents complexants tels que l'EDTA (acide (éthylène-diamine)tétraacétique).

Selon un mode de réalisation particulièrement préféré de la présente invention, on met la poudre de nacre en contact intime avec l'agent d'extraction selon l'étape b) en réalisant un mélange, constitué par la poudre de nacre et l'agent d'extraction, tel qu'il  
30 comprend, par rapport à son poids total, environ 20 à environ 60 % en poids de poudre de nacre obtenue à l'étape a), telle que décrite ci-dessus, et le reste en agent d'extraction tel que décrit ci-dessus.



La mise en contact intime de la poudre de nacre avec l'agent d'extraction, selon l'étape b) du présent procédé, peut notamment être effectuée par mise en suspension de la poudre de nacre dans l'agent d'extraction, sous agitation mécanique forte et homogène, pour permettre un enrobage d'extraction des particules de nacre.

- 5        On peut par exemple procéder à température ambiante c'est à dire à une température de l'ordre de 20 °C pendant environ 1 heure, mais les durées et les températures peuvent être adaptées, par l'homme du métier, notamment en fonction de la granulométrie de départ de la poudre de nacre.

10        Selon un autre mode de réalisation, l'étape b) de mise en contact peut être effectuée par passage sous pression de l'agent d'extraction à travers la poudre de nacre immobilisée. Cette immobilisation peut par exemple être effectuée par une colonne, de type CLHP, éventuellement en mélange avec des substances de charge permettant un meilleure diffusion de l'agent d'extraction et évitant le compactage de la poudre de nacre.

- 15        Sans vouloir toutefois être lié à une quelconque théorie, on pense que la présence du collagène et du protéoglycane dans l'agent d'extraction, en particulier du collagène marin et de l'acide hyaluronique, favoriserait l'extraction de composés apparentés présents dans la nacre, par un phénomène physico-chimique d'affinité, avec en outre une potentialisation des effets des composants ainsi extraits de la nacre. En  
20        particulier, on pense que l'extraction des collagènes ancestraux de la nacre serait favorisée par la présence des collagènes marins et l'extraction tant des protéines d'adhésion (décorine et cytokines) que des protéoglycannes de la nacre serait favorisée par la présence du protéoglycane choisi.

25        Quoi qu'il en soit, de préférence, on réalise la mise en contact intime, pour une température donnée, pendant un temps suffisant pour réaliser une extraction pratiquement complète. Par "extraction pratiquement complète", on entend selon l'invention l'extraction de tous les composants extractibles de la nacre lors de sa mise en contact avec l'agent d'extraction.

- 30        En d'autres termes, l'obtention d'un équilibre des concentrations totales notamment en collagènes ou en protéoglycannes dans la phase liquide hydroglycolique correspond à l'obtention de ladite "extraction pratiquement complète".



Il est donc à la portée de l'homme du métier de déterminer le caractère "pratiquement complet" d'une telle extraction, par exemple par des mesures régulières de ces concentrations totales en collagènes ou en protéoglycannes dans la phase liquide hydroglycolique.

5           Quoi qu'il en soit, l'étape de mise en contact peut comprendre avant sa fin une période de repos (arrêt de l'agitation) de la suspension de la poudre de nacre dans l'agent d'extraction.

A la fin de l'étape b) de mise en contact, on récupère le mélange d'extraction, formé par la mise en contact intime, constituant la composition désirée.

10           Cette composition, sous forme d'une suspension hydroglycolique, peut être conservée telle qu'elle avant utilisation. Pour des raisons pratiques de mise en oeuvre ultérieure (stockage, transport, formulation etc.) on peut également séparer la phase liquide de la phase solide de cette composition.

Ainsi, selon une variante, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que, à  
15 la fin de l'étape b), on récupère le mélange d'extraction, formé par la mise en contact intime, constituant la composition désirée, et l'on sépare la phase liquide de la phase solide de la composition par des moyens connus de l'homme du métier, tels que des moyens d'ultra-filtration, de filtration tangentielle etc.

On comprend que les phases solide et liquide ainsi séparées constituent  
20 ensemble la composition préparée comme décrit ci-dessus. On peut ainsi prévoir que, lors d'une formulation ultérieure utilisant cette composition, avec des excipients pharmaceutiquement ou cosmétiquement appropriés, la composition peut être reconstituée à toute étape de la formulation, par adjonction simultanée ou séparée dans le temps des phases solide et liquide respectives, pour des raisons de commodités de  
25 mise en formulation. Compte tenu de ce qui précède, on comprend que la présente invention a également pour objet la phase liquide telle qu'obtenue à l'issue de l'étape de séparation décrite ci-dessus. De même, la présente invention a aussi pour objet la phase solide telle qu'obtenue à l'issue de l'étape de séparation décrite ci-dessus.

La présente invention a également pour objet une composition nouvelle,  
30 susceptible d'être obtenue par le procédé tel que décrit ci-dessus (comprenant les phases solides et liquides, avec ou sans étape de séparation comme décrit ci-dessus).



En particulier, cette composition est caractérisée par le fait qu'elle comprend au moins, sous forme d'une suspension hydroglycolique d'une phase liquide et d'une phase solide :

- de l'aragonite ( $\text{CaCO}_3$ ) ;
- 5        - des oligo-éléments choisis dans le groupe constitué par le sodium, le magnésium, le lanthane, le zinc, le brome, le césium, le fer, le manganèse, le chlore, le cuivre, le potassium, le calcium, le strontium, le soufre et les mélanges de ces derniers;
- des protéines fibreuses de la nacre, notamment des collagènes ancestraux de la nacre apparentés aux collagènes marins de l'agent d'extraction (voir Figure 1 décrite ci-  
10    après);
- des protéines non fibreuses de la nacre, notamment des protéines apparentées aux protéines d'adhésion telles que la Décorine (voir Figure 2 décrite ci-après);
- au moins un collagène non issu de la nacre et/ou au moins un protéoglycane non issu de la nacre.

15        On comprend bien entendu que par "collagène non issu de la nacre" et par "protéoglycane non issu de la nacre" on entend respectivement selon l'invention le collagène et le protéoglycane utilisés pour l'agent d'extraction de l'étape b) du présent procédé. De même, l'expression "suspension hydroglycolique" s'explique par le fait que la composition selon l'invention comprend non seulement des composants solubles (en  
20    solution hydroglycolique) mais aussi des composants non solubles (notamment l'aragonite).

Par ailleurs, les préférences énoncées ci-dessus pour le procédé selon l'invention s'appliquent bien entendu à cette composition.

25        Ainsi, en particulier, le collagène non issu de la nacre dans la composition selon l'invention est de préférence un collagène marin et plus particulièrement un collagène marin choisi dans le groupe constitué par le "PANCogene<sup>®</sup> MARIN", le "COLLAGENE NATIF MARIN - Code 690" et les mélanges de ces derniers. De même, le protéoglycane non issu de la nacre peut être tout protéoglycane connu de l'homme du métier, notamment tout protéoglycane non soufré, et est en particulier  
30    choisi dans le groupe constitué par l'acide hyaluronique, le chondroïtine sulfate, le dermatane sulfate, l'éparane sulfate, le kératane sulfate et les mélanges de ces derniers, et est plus particulièrement l'acide hyaluronique.





Comme le montrent plus en détail les exemples ci-après, cette composition présente des propriétés très intéressantes vis à vis de la peau et/ou des phanères, notamment des propriétés de régénération tissulaire, permettant par exemple une cicatrisation améliorée, ainsi que des propriétés anti-âge permettant de prévenir et / ou de réduire de manière visible les effets liés au vieillissement de la peau et/ou des phanères. Au niveau des différents types cellulaires de la peau, elle présente une action réparatrice et régulatrice de l'équilibre physiologique entre ses différents constituants. Plus particulièrement, ses composantes organiques et minérales agissant en particulier à plusieurs niveaux sur le métabolisme des kératinocytes. Cette composition permet une restructuration de l'épiderme, contribuant à une meilleure protection des couches les plus profondes. L'épiderme devient plus résistant, plus profond et en continuelle interaction avec le derme. De plus, cette composition permet un enrichissement en élastine et en collagènes. La peau est plus élastique et plus ferme. Elle est résistante et ses composantes se renouvellent à un rythme soutenu. En outre, cette composition stabilise les synthèses pigmentaires et favorise la microcirculation. Enfin, cette composition présente l'avantage d'une innocuité totale et celui d'avoir un effet anti-inflammatoire, donc apaisant.

Ainsi, la présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention, et un excipient pharmaceutiquement acceptable.

De préférence, l'excipient pharmaceutiquement acceptable est un excipient approprié pour une application dermatologique.

La présente invention a également pour objet l'utilisation de cette composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé tel que décrit ci-dessus, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des troubles de la régénération tissulaire de la peau et/ou des phanères.

Par ailleurs, la présente invention a pour objet l'utilisation de la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé tel que décrit ci-dessus, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des troubles de la peau et/ou des phanères liés au vieillissement



Enfin, la présente invention a pour objet l'utilisation de la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé tel que décrit ci-dessus, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des manifestations cutanées inflammatoires.

5 La présente invention a encore pour objet une composition cosmétique, caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe cosmétiquement actif, la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention, et un excipient cosmétiquement acceptable.

On peut utiliser tout excipient cosmétique connu de l'homme du métier.

10 Bien entendu, la composition cosmétique selon l'invention peut contenir en outre des ingrédients de type cosmétique connus de l'homme du métier, tels que des agents hydratants, des agents adoucissants, ou encore des filtres chimiques ou organiques.

Les compositions pharmaceutiques et cosmétiques décrites ci-dessus peuvent en particulier se présenter sous la forme d'une crème, d'une pommade, d'un gel, d'une  
15 lotion, d'une émulsion huile-dans-eau, d'une émulsion eau-dans-huile ou peuvent être associées à tout vecteur pharmaceutiquement ou cosmétiquement acceptable tels que des liposomes.

En outre, la présente invention a pour objet l'utilisation de la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé selon  
20 l'invention, pour la fabrication d'une composition cosmétique destinée au traitement cosmétique pour la régénération tissulaire de la peau et/ou des phanères.

Par ailleurs, la présente invention a pour objet l'utilisation de la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention, pour la fabrication d'une composition cosmétique destinée au traitement  
25 cosmétique des modifications liées au vieillissement de la peau et/ou des phanères.

La présente invention a enfin pour objet une méthode de traitement cosmétique pour la régénération tissulaire de la peau et/ou des phanères, caractérisée en ce qu'on applique sur la peau et/ou les phanères la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention.

30 La présente invention a par ailleurs pour objet une méthode de traitement cosmétique des modifications liées au vieillissement de la peau et/ou des phanères.



caractérisée en ce qu'on applique sur la peau et/ou les phanères la composition nouvelle telle que décrite ci-dessus, susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention.

Les Figures 1 et 2 représentent un Western blot d'une composition préparée par le procédé selon l'invention.

5 La Figure 3 représente un histogramme de la composition globale en acides aminés de la phase protéique d'une composition préparée par le procédé selon l'invention.

Les Figures 4 et 5 sont des photographies illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur la synthèse de cytokératines par des kératinocytes  
10 humains.

Les Figures 6 et 7 sont des photographies illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur des kératinocytes humains en culture sevrés en oestradiol.

Les Figures 8 et 9 sont des photographies illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur la synthèse de cytokératines par des kératinocytes  
15 humains en culture sevrés en oestradiol.

Les Figures 10 et 11 sont des photographies illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur la synthèse d'élastine par les fibroblastes humains.

Les Figures 12 et 13 sont des photographies illustrant l'effet des oestrogènes sur des fibroblastes humains.

20 Les Figures 14 et 15 sont des photographies illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur des fibroblastes humains sevrés en oestradiol.

La figure 16 est un histogramme illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur les mélanocytes par la modification de la quantité de mélanine captée par des kératinocytes mis en culture en présence de la composition.

25 Les Figures 17 et 18 sont des photographies illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur la quantité de mélanine captée par des kératinocytes humains cultivés.

La Figure 19 est un histogramme illustrant l'effet de la composition préparée selon l'invention sur la sécrétion de l'interleukine 1 (IL-1) par les cellules promyelocytiques HL 60.  
30

Enfin, la Figure 20 est un histogramme illustrant l'étude de la non cytotoxicité de la composition préparée selon l'invention.



Les exemples suivants sont destinés à illustrer la présente invention mais ne doivent en aucun cas être interprétés comme pouvant en restreindre la portée.

### Exemple 1 : procédé de préparation d'une composition selon l'invention

5 Le matériel utilisé doit être un matériel type sous vide, bien étanche, de préférence en Inox. Il doit être précédemment lavé et rincé proprement de façon à éviter tout risque de contaminations bactériennes.

1.1) On utilise de la nacre de *Pinctada maxima* déjà débarrassée de la partie  
10 externe de la coquille (périostracum) et mise sous forme de fragments irréguliers (fournie par la société Pharma Futura 10, rue de Charonne, 75012 PARIS). Les fragments sont de taille comprise entre 2 à 5 centimètres de longueur et 0.3 centimètres d'épaisseur.

On effectue un lavage décontaminant très rapide sans trempage des fragments  
15 dans une solution d'hypochlorite de sodium à 6.6% de chlore actif (12°) puis un séchage extemporané de façon à retirer toute trace d'eau.

Le meulage pour la micronisation doit être réalisé à sec dans des jarres en zirconium réservées exclusivement à cet effet, précédemment lavées (eau javellisée + rinçage + lavage eau distillée) et stérilisées à chaud. Le broyage se fait au moyen de  
20 billes en zirconium, elles-mêmes stérilisées.

La poudre de nacre micronisée ainsi obtenue présente une granulométrie comprise entre 50 et 150  $\mu$ m. Elle est ensuite stérilisée par irradiation aux rayons  $\gamma$  2.5 Mrad.

La poudre de nacre micronisée ainsi réalisée présente les caractéristiques  
25 suivantes :

- Aspect	Pulvérulent
- Couleur	Blanche
- Odeur	Caractéristique de la Nacre
- Arsenic	< 1ppm
30 - Métaux lourds	< 10 ppm.

Analyse bactériologique :

- Numéro des germes aérobies	1 550/g
------------------------------	---------





- Degré d'hygrométrie 0,3 %

1.2) On réalise le mélange suivant : 400 grammes de poudre de nacre de Pinctada Maxima micronisée comme décrit ci-dessus (granulométrie comprise entre 50 et 150  $\mu\text{m}$ ) sont ajoutés progressivement à 600 ml d'un agent d'extraction sous forme d'une solution hydroglycolique (eau et éthylèneglycol respectivement selon un rapport pondéral 10 : 1) comprenant 0,18 % en poids du collagène marin "PANCOGENE<sup>R</sup> MARIN" (commercialisé par la société Gattefossé; Saint Priest, France; dénomination INCI : "Soluble Collagen"; référencement au Japon : "water soluble collagen"; MHV : 20800CZY0010000), et 0,2 % en poids d'acide hyaluronique (commercialisé par la société Laboratoire Industriel de Biologie; Soisy Sous Montmorency, France), par rapport au poids total de l'agent d'extraction, sous agitation à environ 4000 tours/minutes et à une température d'environ 20 °C. L'addition étant terminé, on maintient l'agitation et la température pendant 60 minutes. L'agitation doit être forte et homogène de façon à mettre toutes les particules du mélange en contact et permettre un enrobage d'extraction.

Le mélange est ensuite laissé au repos pendant 6 heures.

La composition ainsi obtenue se compose d'une phase solide particulière blanc-cassé, en suspension dans une phase liquide et a un pH d'environ 8.

Cette composition comprend :

- de l'aragonite ( $\text{CaCO}_3$ );
- des oligo-éléments marins : sodium, magnésium, lanthane, zinc, brome, césium, fer, manganèse, chlore, cuivre, potassium, calcium, strontium et soufre (voir Tableau 1 ci-dessous);
- des protéines fibreuses : différents types de protéines apparentées aux collagènes marins, pouvant être considérées comme des collagènes ancestraux de la nacre, et le collagène marin "PANCOGENE<sup>R</sup> MARIN";
- des protéines non fibreuses : protéoglycannes, dont l'acide hyaluronique de la nacre et l'agent d'extraction, ainsi que des protéines d'adhésion de la nacre (décorine rp et cytokines rp: "rp signifiant "related peptides or proteins" ou "peptides ou protéines apparentés", c'est à dire des peptides ou protéines apparentés respectivement à la



décorine et à la cytokine dans la mesures où ils sont reconnus par les anticorps tournés contre ces dernières molécules).

Les techniques utilisées pour l'identification des peptides et protéines dans le cadre de la présente invention sont celles décrites dans les articles suivants :

5       - électrophorèse - Méthode SDS-Page : méthode de Laenli, Nature 1970, 227 680-682;

      - immunotransfert : Western blot selon Towbin H. et al, 1979, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76(9) : 4350-4354 et Burnette W.N. 1981, Analytical Biochemistry 112 : 195-203.

10       Les Western blot correspondants sont représentés aux Figures 1 et 2.

      L'analyse en acides aminés de la phase protéique indique la présence d'acide aspartique, de thréonine, de serine, d'acide glutamique, de glycine, d'alanine, de proline, de valine, de methionine, d'isoleucine, de leucine, de tyrosine, de phenylalanine, d'histidine, de lysine, et d'arginine. La Figure 3 représente un histogramme de la

15       composition globale en acides aminés.

      La composition obtenue comme décrit ci-dessus sera dénommé dans ce qui suit par "composition A".

20       **Tableau 1 : analyse quantitative des oligo-éléments contenus dans la composition A**

Elément	Concentration moyenne (µg/g)	Elément	Concentration moyenne (g/100g)
Soufre	0,02	Calcium	38,8
Magnésium	2		
Lanthane	0,28		
Zinc	0,4		
Brome	1,78		
Césium	5,5		
Fer	13,6		
Manganèse	50		
Chlore	296		
Cuivre	143		
Potassium	582		
Strontium	1000		
Sodium	5420		



**Exemple 2 : étude de l'activité de la composition A**

La recherche scientifique, histologique et cytologique qui utilise soit des modèles *in vivo* animaux, soit des cultures de cellules humaines en faisant appel à la microscopie et aux techniques les plus modernes de détection de substances par immunologie et immunocytochimie permet actuellement une étude à l'échelle cellulaire  
5 qui a été mise en pratique pour expérimenter les substances actives de cette composition A.

Cette étude a essentiellement porté sur trois types de cellules dans la mesure où celles-ci jouent de manière connue un rôle majeur dans la structure, le fonctionnement  
10 et la pigmentation du tissu cutané : les kératinocytes, les fibroblastes et les mélanocytes. Les deux types cellulaires, kératinocytes et fibroblastes, possèdent les récepteurs spécifiques aux substances actives de la composition A et en particulier de l'ensemble des composants de la nacre qui y sont présents, entraînant une cascade de messages pouvant atteindre le niveau des couches les plus profondes du derme.

L'étude a non seulement porté sur leur aspect morphologique mais aussi le  
15 comportement de leurs composants majeurs, noyaux et cytoplasme, témoignant de leur activité de synthèse et de leur capacité de renouvellement. La présence de certaines substances actives ainsi que celle de protéines de structure sécrétées a également été identifiée.

20

**1.1) Activité de la composition A sur les kératinocytes : Synthèse de cytokératines par des kératinocytes humains cultivés en présence de la composition A****1.1.1) Méthode**

25 Les kératinocytes sont les cellules les plus externes de notre corps. Ils constituent notre première barrière de protection. Les kératinocytes interviennent en agissant de manière passive et active. C'est en constituant une barrière qui joue le rôle de bouclier que les kératinocytes élaborent la protection passive. Ce bouclier est fabriqué à partir de cellules desséchées et anuclées. La forte cohésion des cellules  
30 permet d'assurer un système très homogène. Les kératinocytes synthétisent des substances, les cytokératines, qu'ils conservent dans leur cytoplasme pour structurer cette barrière. Les cytokératines constituent le squelette internes des kératinocytes. Ce



squelette interne donne à ces cellules leur volume et augmente leur capacité de communication intercellulaire et facilite la captation de la mélanine. Plus l'épiderme sera riche en cytokératines, plus il sera efficace et donnera à la peau son aspect jeune. En facilitant le contact entre les cellules, les cytokératines préviennent la perte des NMS  
5 (Natural Moisturizing Factors : facteurs d'hydratation naturels, tels que les céramides, le cholestérol et les acides gras).

La protection active de la peau est liée au fait que les kératinocytes sont les premières cellules de notre corps à être en contact avec l'extérieur. Elles ont donc développé une panoplie de composants destinés à informer notre organisme aux  
10 éventuels changements des conditions de notre environnement. Pour ce faire, ces cellules sont capables de synthétiser des facteurs de croissance destinés à stimuler les cellules sous jacentes du derme (fibroblastes), notamment le PTH related peptide (PTHrp), synthétisé majoritairement par les kératinocytes et connu pour être un facteur de différenciation cellulaire.

15 La méthode utilisée a été la suivante. Elle met en oeuvre une technique semi-quantitative rapide qui permet d'apprécier le taux de chacune des protéines sécrétées présentes dans le cytoplasme cellulaire.

$4.10^4$  cellules sontensemencées par chambres de  $0.9\text{ cm}^2$  (lames de 8 chambres NUNC) et mises en culture pendant une nuit. Après rinçage avec du tampon  
20 HBSS, le milieu à 1% de la composition A ou le milieu de contrôle (à 0% de composition A) est ajouté (450  $\mu\text{l}$  par chambre).

Les cultures sont incubées 48 h. Après élimination des surnageants et rinçage des cultures, les cellules sont fixées avec du paraformaldéhyde pendant 30 min à  $4^\circ\text{C}$  puis rincées avec du tampon PBS.

25 200  $\mu\text{l}$  d'anticorps primaires anti-cytokératines sont ajoutés. L'incubation dure 30 min à température ambiante. Les surnageants sont alors éliminés et les cellules sont rincées avec le PBS.

200  $\mu\text{l}$  d'anticorps secondaires reconnaissant l'anticorps primaire et couplés à un marqueur fluorescent, en l'occurrence la fluorescéine, sont ajoutés. Après 30 min  
30 d'incubation à température ambiante, les surnageants sont éliminés et les cellules sont





rincées au PBS. Les lames sont alors montées puis examinées au microscope inversé à fluorescence (détection par immunofluorescence de cytokératines intracytoplasmiques).

La quantité de protéines synthétisées, en l'occurrence des cytokératines, par les cellules et ainsi marquées est proportionnelle à l'intensité de la fluorescence résultant du marquage immunologique.

### 1.1.2) Résultats

Comme le montre les Figures 4 et 5, l'addition de 0.5% de la composition A dans le milieu de culture des kératinocytes a pour effet d'augmenter la synthèse des cytokératines. La composition A restaure l'activité des kératinocytes provenant de peaux âgées ainsi que la sécrétion de cytokératines par ces kératinocytes (action sur des kératinocytes sevrés en oestradiol: voir Figures 6, 7 et 8, 9).

En outre, la synthèse par les kératinocytes de PTHrp calcium dépendant est stimulée en présence de la composition A. Le PTHrp, synthétisé majoritairement par les kératinocytes, est particulièrement actif en présence de l'ion calcium fourni par la composition A et agit en synergie avec les cytokines de la matrice organique totale de la nacre présente dans la composition A.

La décorine, protéine d'adhésion majeure de la régénération cutanée est également stimulée en présence de la composition A.

Les cadhérines, protéines d'adhésion calcium dépendantes, sont aussi grandement responsables de la cohésion. Elles sont stimulées en présence de la composition A.

## 1.2) Activité de la composition A sur les fibroblastes, synthèse d'élastine

### 1.2.1) Synthèse d'élastine par des fibroblastes humains cultivés en présence de la composition A

La méthode utilisée est la même que celle décrite au paragraphe 1.1.1) ci-dessus pour l'étude sur les kératinocytes.

Comme cela ressort des Figures 10 et 11, la composition A à 1% de concentration stimule fortement la synthèse d'élastine par les fibroblastes humains.



1.2.2) Comparaison de l'effet des oestrogènes et du Biocrystal maxima m. sur des fibroblastes humains en culture (Figures 12, 13, 14 et 15).

Les fibroblastes matures peu actifs sont de forme très allongée, aplatie et présentent des noyaux denses. Les fibroblastes actifs ont des noyaux de grande taille, arrondis, avec de volumineux nucléoles, témoignant du processus actif de synthèse. Le type "fibroblaste actif" est observé dans les cultures d'explants de peau prélevés sur une femme de 50 ans sous traitement hormonal de substitution.

La privation d'oestrogènes dans le milieu de culture provoque une inactivation drastique des cellules. Elles ne sont plus adhérentes ni confluentes, certaines présentent un début de pycnose.

Les Figures 12 et 14 illustrent l'effet de la composition A sur des fibroblastes humains provenant d'explants de femme de 50 ans ménopausée (donc en baisse de sécrétion d'oestrogènes), sous traitement de substitution.

Les Figures 13 et 15 illustrent l'effet de la composition A sur des fibroblastes humains sevrés en oestradiol, provenant d'explants de femme de 50 ans ménopausée, sous traitement de substitution.

Comme cela ressort de ces Figures 12 à 15, la composition A, ajoutée à 1% au milieu de culture restaure complètement l'activité des fibroblastes sevrés. L'action de la composition A est remarquable : les fibroblastes ont un noyau bien développé, très clair, avec un nucléole proéminent. Leurs corps cellulaires fusiformes s'orientent et sont confluentes, permettant les échanges cellulaires. Des résultats similaires ont été obtenus en travaillant sur des cellules provenant d'explants de peaux jeunes.

**1.3) Activité de la composition A sur les mélanocytes : modification de la quantité de mélanine captée par des kératinocytes mis en culture en présence de la composition A.**

#### 1.3.1) Méthode

Les mélanocytes sont les cellules pigmentaires responsables de la synthèse de la mélanine, pigment qui est à l'origine de la couleur de notre peau. Les cellules mélanocytaires représentent environ 2 à 4 % de la population épidermique totale. La couleur homogène de la peau est due à une répartition du pigment sur toute la surface



cutanée grâce au transfert de la mélanine sous forme de mélanosomes depuis les cellules sécrétrices (mélanocytes) vers les kératinocytes voisins qui la captent.

La méthode consiste à réaliser une co-culture kératinocytes/mélanocytes avec dosage de la mélanine.

5 Les kératinocytes et les mélanocytes sont toutes deux des populations cellulaires situées au niveau de l'épiderme. Elles sont obtenues à partir d'un prélèvement de peau après élimination du derme et digestion enzymatique de l'épiderme. Les cellules épidermiques ainsi isolées sont comptées au Coulter Counter (Coultronics) puis elles sont mises en culture dans un milieu de culture classique type Dubelco modifié (eagle  
10 medium) supplémenté avec de la glutamine, strptomycine/péniciline et 10% de serum de veau foetal . Les pourcentages sont ajustés en fonction des résultats obtenus. Ce milieu permet la survie des mélanocytes et des kératinocytes.

Après 4 jours d'incubation en présence de la composition A, les cellules sont digérées par un mélange NaOH/DMSO puis le surnageant est récupéré après  
15 centrifugation. La lecture est effectuée à 470 nm.

### 1.3.2) Résultats

Les résultats sont regroupés dans le tableau 1 suivant et représentés par l'histogramme à la Figure 16.

20

**Tableau 2 : µg de mélanine captée par les kératinocytes**

	échantillon 1	échantillon 2	échantillon 3	moyenne	écart type
témoin	0,150	0,149	0,148	0,149	0,001
Composition A (0,5 %)	0,150	0,132	0,140	0,141	0,009
Composition A (1 %)	0,139	0,137	0,143	0,140	0,003

25 La présence de 1% de la composition A provoque un changement de répartition significatif de la mélanine captée par les kératinocytes en évitant les concentrations ponctuelles (voir les Figures 17 et 18).



#### 1.4) Mise en évidence par immunocytochimie de la stimulation des kératinoctes et des fibroblastes par la composition A

##### 1.4.1) Méthode

5 Il s'agit une technique semi-quantitative rapide qui permet d'apprécier le taux de chacune des protéines (cytokératine et élastine) présentes dans le cytoplasme cellulaire.  $4.10^4$  cellules sontensemencées par chambre de  $0.9 \text{ cm}^2$  (lame de 8 chambres, NUNC) et mises en culture pendant une nuit. Après rinçage avec du tampon HBSS, le milieu à 1% de la composition A ou le milieu de contrôle (à 0 % de composition A) est ajouté  
10 (450  $\mu\text{l}$ /chambre). Les cultures sont incubées 48 heures. Après élimination des surnageants et rinçage des cultures, les cellules sont fixées avec du paraformaldéhyde pendant 30 minutes à  $4^\circ\text{C}$  puis rincées avec du tampon PBS. 200 $\mu\text{l}$  d'anticorps anti-cytokératine et/ou anti-élastine sont ajoutés. L'incubation dure 30 minutes à température ambiante. Les surnageants sont alors éliminés et les cellules sont rincées avec le PBS.  
15 200 $\mu\text{l}$  du deuxième anticorps conjugué à la fluorescéine sont additionnés. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, les surnageants sont éliminés et les cellules sont rincées au PBS. Les lames sont alors montées puis examinées au microscope à fluorescence inversée. Les quantités d'élastine ou de cytokératine synthétisées par les cellules sont proportionnelles à l'intensité de la fluorescence.

20

##### 1.4.2) Résultats

L'addition de 1% de la composition A dans le milieu de culture des kératinocytes a pour effet d'augmenter la synthèse des cytokératines par les cellules kératinocytaires de l'épiderme. Cette stimulation a été observée d'une manière importante à partir de  
25 0.5% de la composition A.

Lorsque les fibroblastes sont incubés in vitro en présence de la composition A (à 1%) on assiste au bout de 48 heures à une augmentation très sensible de l'intensité de la fluorescence traduisant ainsi une stimulation de la synthèse de l'élastine par les fibroblastes du derme.

30





### 1.5) Activité anti-inflammatoire de la composition A : dosage de l'interleukine 1 (IL-1) sécrétée par les cellules promyélocytiques HL 60 traitées par la composition A

Au cours d'un processus d'inflammation, on assiste d'abord à une migration d'un grand nombre de cellules inflammatoires du sang périphérique vers les sites d'inflammation, puis à une sécrétion importante au niveau de ces sites de certaines cytokines et notamment de l'IL-1. Cette dernière est considérée comme ayant un rôle majeur.

Dans cette étude, la sécrétion de l'IL-1 est mesurée en utilisant une lignée cellulaire HL-60 en présence de la composition A.

La production de l'IL-1 est amplifiée par addition dans le milieu de culture de phytohémagglutinine (PHA) qui est un puissant stimulant de la sécrétion d'IL-1. L'IL-1 est quantifiée par la technique classique du dosage immunologique par ELISA à l'aide d'un anticorps spécifique dirigé contre l'IL-1 humain.

#### 1.5.2) Résultats

Les résultats sont regroupés dans le tableau 3 suivant et représentés par l'histogramme à la Figure 19.

Tableau 3 : mise en évidence de l'effet de la composition A sur la production d'interleukine 1 (IL-1, en picogrammes) sécrétée par les cellules promyélocytiques

	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	moyenne	écart type
Témoin	0,703	0,685	0,654	0,681	0,025
Composition A (0.5 %)	0,689	0,664	0,570	0,641	0,063
Composition A (1 %)	0,494	0,615	0,527	0,545	0,063

En présence de 1% de la composition A, on observe donc une baisse significative de la synthèse de l'IL-1 traduisant ainsi un effet anti-inflammatoire très



sensible de la composition A. Cet effet in vitro a également été observé lors d'implantations pratiquées chez le rat in vivo.

**1.6) Test de toxicité. Mise en évidence de la non cytotoxicité de la composition A :**  
5 **test M.T.T. d'activité mitochondriale**

**1.6.1) Méthode**

Il s'agit d'un test colorimétrique basé sur la réduction d'un sel de tétrazolium (M.T.T.) par la NADPH réductase mitochondriale de cellules vivantes en un produit  
10 formazan bleu-violet.

$2.10^4$  cellules dans 200  $\mu$ l de milieu de culture sontensemencées dans chaque puits (plaque 96, NUNC), puis incubées pendant une nuit pour leur permettre de bien adhérer au plastique. Après rinçage des cellules avec du milieu sans sérum, les différentes concentrations contenues dans le milieu de culture (1 %, 0.5 % et 0.1 % de  
15 composition A) ou le milieu témoin (0 % de composition A) sont ajoutées à valeur de 200  $\mu$ l/puits.

Après 48 heures d'incubation, les surnageants sont éliminés et les cellules sont rincées avec du tampon HBSS. 100  $\mu$ l de milieu de culture contenant 20 % d'une solution de M.T.T. (bromure de 3-4,5-diméthylthiazol-2-gamma,1-2,5-  
20 diphényltétrazolium: "Thiazolyl Blue") sont additionnés dans chaque puits. La réaction s'effectue pendant 2 heures à l'étuve à 37° C à 5 % de CO<sub>2</sub>.

Pour permettre une meilleure solubilisation des cristaux de formazan, 100  $\mu$ l de HCl 0.04N dans de l'isopropanol sont ajoutés puis la réaction colorée est lue à une longueur d'ondes de 570 nm par un lecteur de microplaques. Les valeurs sont également  
25 exprimées en densité optique.

**1.6.2) Résultats**

Les résultats sont regroupés dans le tableau 4 suivant et représentés par l'histogramme à la Figure 20.



**Tableau 4 : densités optique mesurées**

	Ech. 1	Ech. 2	Ech. 3	Ech. 4	Ech. 5	Ech.6	moyenne	écart type
Témoin	0,455	0,466	0,449	0,449	0,47	0,472	0,460	0,01
Composition A (1 %)	0,732	0,796	0,771	0,785	0,808	0,768	0,777	0,027
Composition A (0.5 %)	0,669	0,675	0,709	0,7	0,698	0,694	0,691	0,016
Composition A (0,1%)	0,643	0,648	0,617	0,624	0,621	0,628	0,630	0,013

La présence de la composition A dans le milieu de culture entraîne donc une augmentation importante de l'activité mitochondriale cellulaire. Cette stimulation de l'activité enzymatique est dose dépendante : plus la concentration en composition A est forte, plus l'activité est élevée. Mais, quelle que soit la teneur du milieu en composition A, l'activité mitochondriale des cellules est largement supérieure à celle des cellules témoins non traitées par la composition A.

## 2.7) Conclusions sur l'activité de la composition A évaluée in vitro

La composition A agit directement sur les couches les plus superficielles de l'épiderme.

Les composantes organiques et minérales de cet extrait s'expriment à plusieurs niveaux dans le métabolisme des kératinocytes en agissant sur l'activité des cellules de la couche basale.

Tout d'abord, la croissance, la division et la différenciation cellulaires sont stimulées puis les synthèses spécifiques des kératinocytes sont amplifiées, notamment celles des cytokératines et les médiateurs destinés au bon fonctionnement du derme comme par exemple le PTHrp favorisant la cascade de communications intercellulaires.

La séquence de différenciation des kératinocytes basaux, étoilés puis granulaires, est stimulée et régulée sans augmentation du nombre des cellules.



L'augmentation régulée du nombre des kératinocytes améliore la structure de l'épiderme et les jonctions dermo-épidermiques. La restructuration de l'épiderme contribue à une meilleure protection des couches les plus profondes.

L'amélioration des synthèses spécifiques telles que celles des cytokératines, stabilise les synthèses pigmentaires et assure une réparation physiologique de la  
5 mélanine au sein des kératinocytes se traduisant par l'absence de concentrations ponctuelles. L'amélioration de la protection cutanée se fait sans induire d'épaississement anormal de la peau, tout en contribuant à approfondir les plans cellulaires couchés sur la jonction dermo-épidermique.

10 C'est parmi l'ensemble des médiateurs sécrétés par les kératinocytes que l'on trouve des substances contribuant à améliorer la réponse de cellules à l'agression et à l'inflammation ainsi que les facteurs de communication permettant les échanges physiologiques entre épiderme et derme. Le renouvellement cellulaire de l'épiderme qui est de 4 à 6 semaines est maintenu à son rythme physiologique.

15 L'amplification de la synthèse des médiateurs augmente le recrutement de tout un ensemble de cellules et c'est parmi ces médiateurs que l'on trouve la Décorine apportée par la composition A au niveau épidermique.

#### 2.7.1) Au niveau épidermique

En activant la synthèse de PTHrp, la composition A agit sur la croissance et la  
20 différenciation des kératinocytes. Cet effet est calcium dépendant, d'où l'intérêt de la présence du calcium ionisé dans la composition A.

L'induction de la division cellulaire et de l'index mitotique au niveau de la couche germinale se traduit par une réelle restructuration de l'épiderme qui devient plus résistant, plus profond et en continuelle interaction avec le derme qu'il protège de la  
25 déshydratation.

#### 2.7.2) Au niveau dermique

La cascade de stimulation entraînée par les médiateurs locaux libérés au niveau de l'épiderme provoque la synthèse d'une très abondante matrice extracellulaire par les  
30 fibroblastes. Celle-ci est très structurée. Elle est notamment composée de protéoglycannes, de collagène et de protéines d'adhésion notamment de la Décorine, protéine d'adhésion jouant un rôle majeur dans les phénomènes de restructuration





cutanée (ou régénération tissulaire cutanée). Elle piège les cytokines et autres facteurs de croissance. Ces observations ont également été constatées in vivo chez le rat.

Par ailleurs, l'enrichissement en élastine sous l'effet de la composition A dont les fibres sont mieux orientées dans la couche conjonctive, permet aux tissus cutanés de  
5 garder leur souplesse et leur forme au cours des dégradations physiologiques entraînées soit par les carences et l'âge, soit par les agressions notamment les étirements.

Les fibroblastes turgescents sont recrutés au niveau des cellules souches précurseurs en nombre suffisant pour que l'effet dû à leur action et leur présence soient durables. Cet effet est entretenu par une microvascularisation accrue.

10 La peau est plus élastique et plus ferme. Elle est résistante. Ses composantes se renouvellent à un rythme soutenu.

Au niveau des différents types cellulaires de la peau, la composition A présente une action réparatrice et régulatrice de l'équilibre physiologique entre ses différents constituants. De plus, il présente l'avantage de l'innocuité totale et celui d'avoir un effet  
15 anti-inflammatoire, donc apaisant.

### Exemple 3 : crème hydratante

Crème Hydratante	
<b>Dénomination INCI</b>	<b>100 KG</b>
PEG-100 STEARATE GLYCERYL STEARATE	1.000
PARAFFINUM LIQUIDUM	3.500
LANOLINE	1.700
MYRISTYL ETOXY MYRISTATE	4.000
HUILES VEGETALES	4.000
CETYL ALCOHOL	2.500
TRIETHANOLAMINE	0.200
ANTIOXYDANT	0.030
PROPYL PARABEN	0.300
CARBOMER	0.250
DISODIUM EDTA	0.400
PROPYLENE GLYCOL	2.000
CONSERVATEUR	0.600
POLYACRYLAMIDE/C13-14	1.000
ISOPARAFFIN/LAURETH-7	
Composition A	2.500
PARFUM	TRACE
AQUA	QSP 100



### Revendications

1. Procédé de préparation d'une composition, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant :

5 a) à réduire de la nacre en une poudre de granulométrie comprise entre environ 1 et environ 300  $\mu\text{m}$ ;

b) à mettre la poudre de nacre ainsi obtenue en contact intime avec un agent d'extraction sous la forme d'une solution hydroglycolique d'au moins un collagène, d'au moins un protéoglycane ou d'un mélange de ces derniers; puis

10 c) à récupérer le mélange d'extraction, formé par la mise en contact intime, constituant la composition désirée.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la nacre est réduite en une poudre de granulométrie comprise entre environ 50 et environ 100  $\mu\text{m}$ .

3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la nacre est réduite en  
15 une poudre de granulométrie comprise entre environ 15 et environ 50  $\mu\text{m}$ .

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le solvant hydroglycolique de l'agent d'extraction présente un rapport pondéral eau:glycol compris entre environ 1 : 100 et environ 100 : 1.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en  
20 ce que l'agent d'extraction est une solution hydroglycolique d'au moins un collagène.

6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que le collagène est un collagène marin.

7. Procédé selon la revendication 5 ou 6, caractérisé en ce que le collagène est un collagène marin choisi dans le groupe constitué par le "PANCOGENE<sup>R</sup> MARIN", le  
25 "COLLAGENE NATIF MARIN - Code 690" et les mélanges de ces derniers.

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, caractérisé en ce que la concentration en collagène est comprise entre environ 0,0001 et environ 50 % en poids, par rapport au poids total de l'agent d'extraction.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en  
30 ce que l'agent d'extraction est une solution hydroglycolique d'au moins un protéoglycane.



10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que le protéoglycane est choisi dans le groupe constitué par l'acide hyaluronique, le chondroïtine sulfate, le dermatane sulfate, l'éparane sulfate, le kératane sulfate et les mélanges de ces derniers.

11. Procédé selon la revendication 9 ou 10, caractérisé en ce que l'agent  
5 d'extraction est une solution hydroglycolique d'acide hyaluronique.

12. Procédé selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisé en ce que la concentration en protéoglycane est de préférence comprise entre environ 0,0001 et environ 40 % en poids, par rapport au poids total de l'agent d'extraction.

13. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé  
10 en ce que l'on met la poudre de nacre en contact intime avec l'agent d'extraction selon l'étape b) en réalisant un mélange, constitué par la poudre de nacre et l'agent d'extraction, tel qu'il comprend, par rapport à son poids total, environ 20 à environ 60 % en poids de poudre de nacre obtenue à l'étape a) et le reste en agent d'extraction.

14. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé  
15 en ce qu'on réalise la mise en contact intime à l'étape b), pour une température donnée, pendant un temps suffisant pour réaliser une extraction pratiquement complète.

15. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, à la fin de l'étape b) on récupère le mélange d'extraction, formé par la mise en contact intime, constituant la composition désirée, et l'on sépare la phase liquide de la  
20 phase solide de la composition.

16. Phase liquide telle qu'obtenue par le procédé selon la revendication 15.

17. Phase solide telle qu'obtenue par le procédé selon la revendication 15.

18. Composition susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes.

25 19. Composition selon la revendication 18, caractérisée par le fait qu'elle comprend au moins, sous forme d'une suspension hydroglycolique :

- de l'aragonite ( $\text{CaCO}_3$ ) ;
- des oligo-éléments choisis dans le groupe constitué par le sodium, le magnésium, le lanthane, le zinc, le brome, le césium, le fer, le manganèse, le chlore, le  
30 cuivre, le potassium, le calcium, le strontium, le soufre et les mélanges de ces derniers;
- des protéines fibreuses de la nacre;
- des protéines non fibreuses de la nacre, et



- au moins un collagène non issu de la nacre et /ou au moins un protéoglycane non issu de la nacre.

20. Composition selon la revendication 18 ou 19, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un collagène marin non issu de la nacre et au moins un  
5 protéoglycane non issu de la nacre choisi dans le groupe constitué par l'acide hyaluronique, le chondroïtine sulfate, le dermatane sulfate, l'éparane sulfate, le kératane sulfate et les mélanges de ces derniers.

21. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 20, en tant que principe  
10 actif, et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

22. Composition pharmaceutique selon la revendication 21, caractérisée en ce l'excipient pharmaceutiquement acceptable est un excipient approprié pour une application dermatologique.

23. Utilisation de la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à  
15 20, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des troubles de la régénération tissulaire de la peau et/ou des phanères.

24. Utilisation de la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 20, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des troubles de la peau et/ou des phanères liés au vieillissement.

20 25. Utilisation de la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 20, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des manifestations cutanées inflammatoires.

26. Composition cosmétique, caractérisée en ce qu'elle comprend la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 20, en tant que principe cosmétiquement  
25 actif, et un excipient cosmétiquement acceptable.

27. Utilisation de la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 20, pour la fabrication d'une composition cosmétique destinée au traitement cosmétique pour la régénération tissulaire de la peau et/ou des phanères.

28. Utilisation de la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à  
30 20, pour la fabrication d'une composition cosmétique destinée au traitement cosmétique des modifications liées au vieillissement de la peau et/ou des phanères.





29. Méthode de traitement cosmétique pour la régénération tissulaire de la peau et/ou des phanères, caractérisée en ce qu'on applique sur la peau et/ou les phanères la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 20.

30. Méthode de traitement cosmétique des modifications liées au vieillissement  
5 de la peau et/ou des phanères, caractérisée en ce qu'on applique sur la peau et/ou les phanères la composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 20.

10

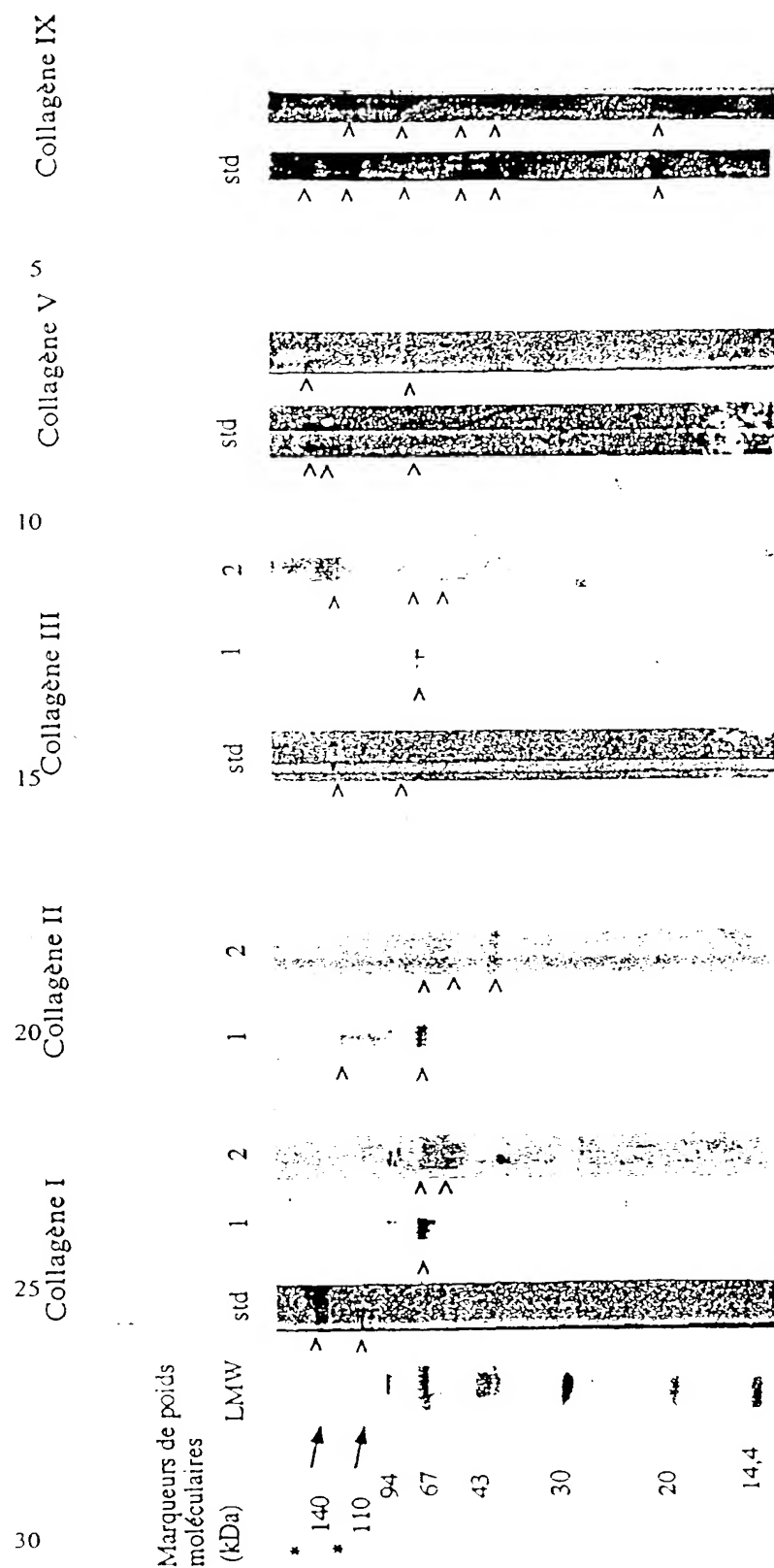
15

20

25

30





**Figure 1 : Western blot de la composition A**

\* Les marques 110 kDa et 140 kDa sont calculées à partir de l'équation  $rf = f(\log PM)$ .



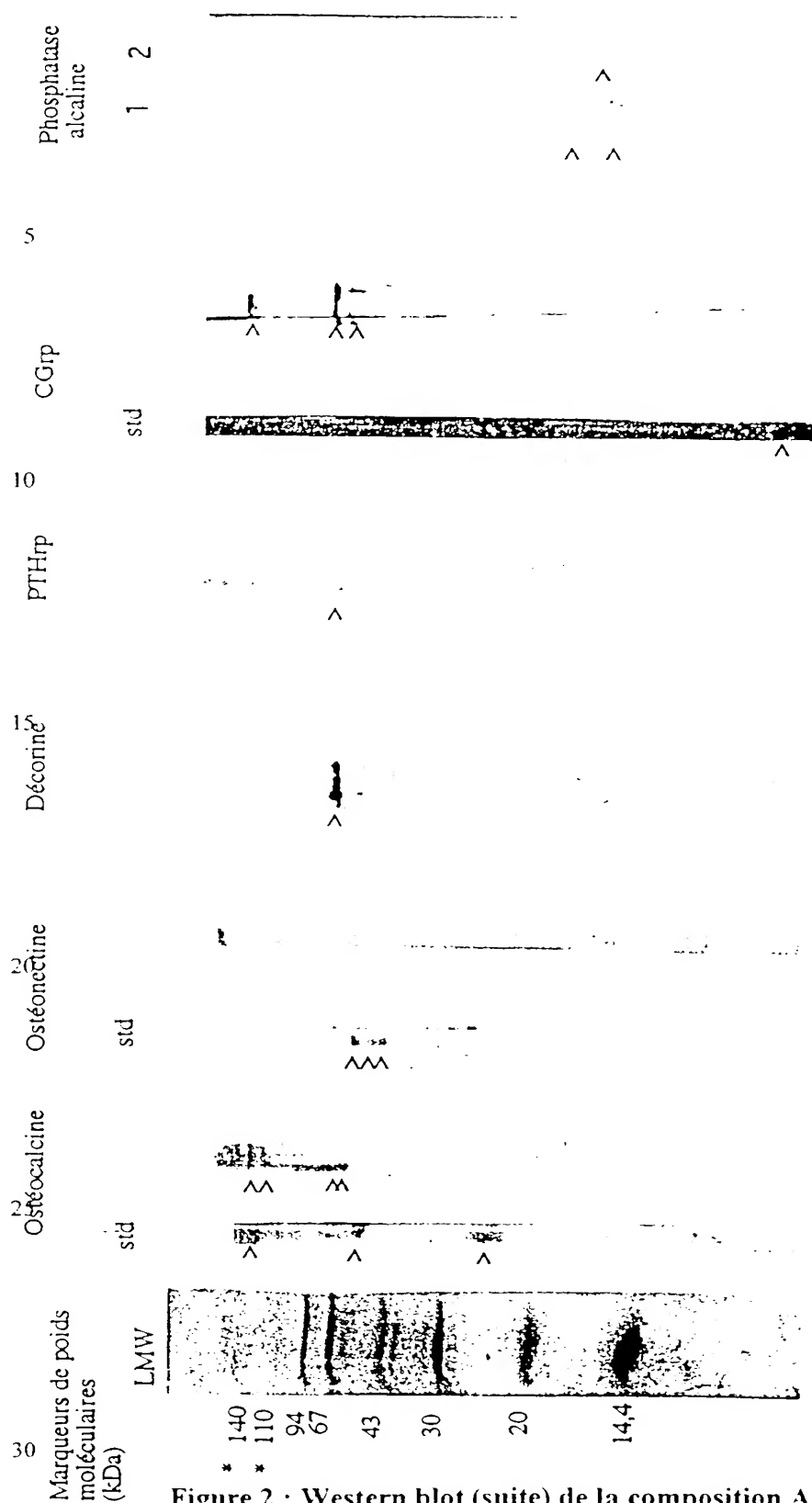


Figure 2 : Western blot (suite) de la composition A

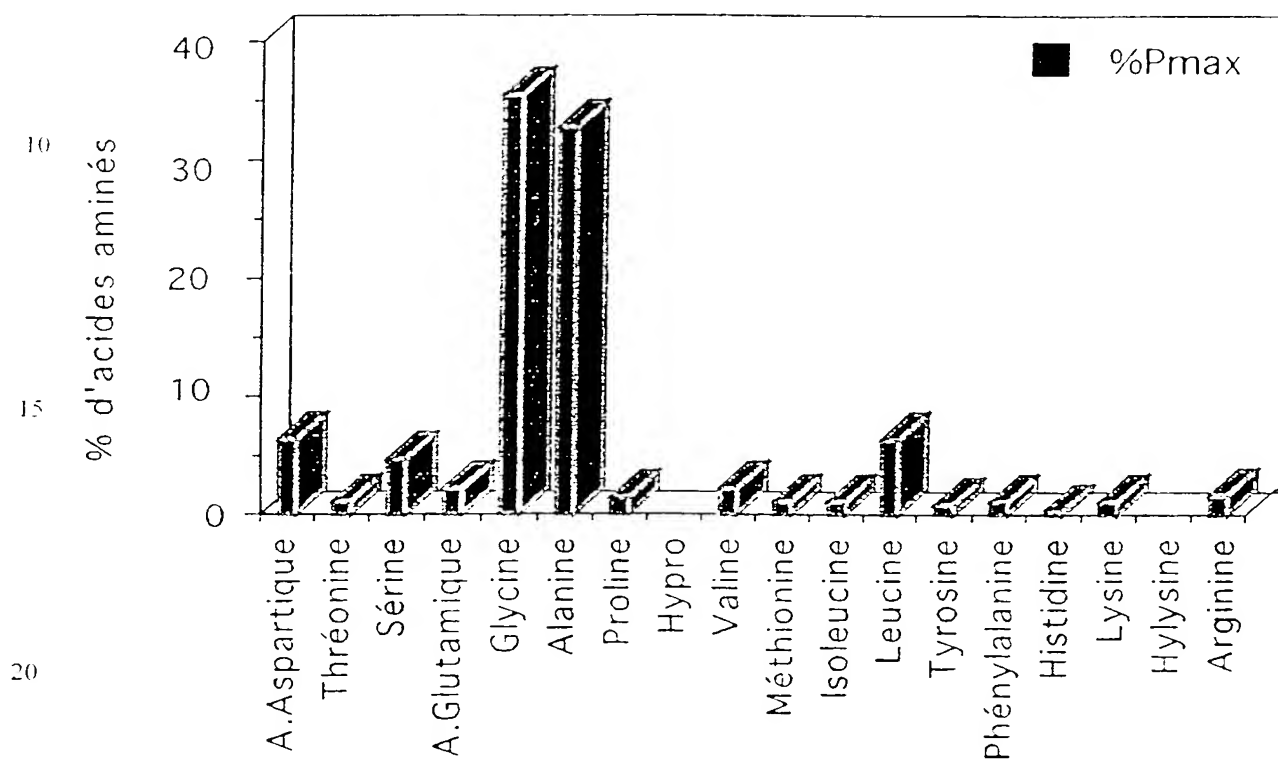
\* Les marques 110 kDa et 140 kDa sont calculées à partir de l'équation  $rf = f(\log PM)$ .

1: Détection biochimique de l'activité de la Phosphatase alcaline

2: Détection immunochimique de la présence de la Phosphatase alcaline.



5



20

Figure 3 : composition globale en acides aminés de la phase protéique de la composition A

25

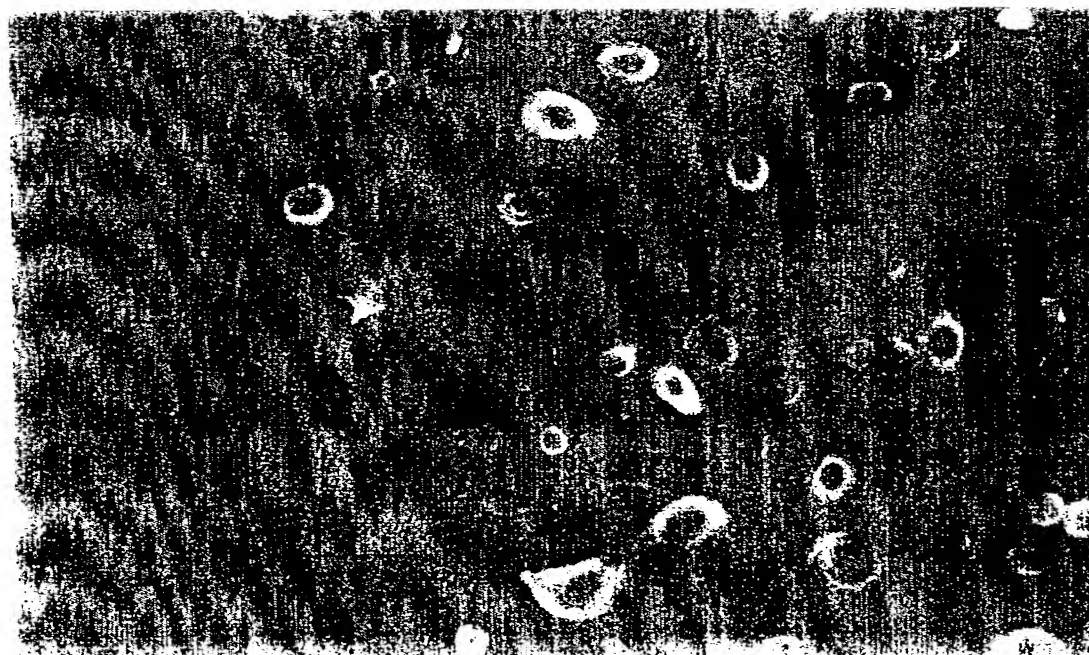
30





WO 01/24804

PCT/FR00/02766





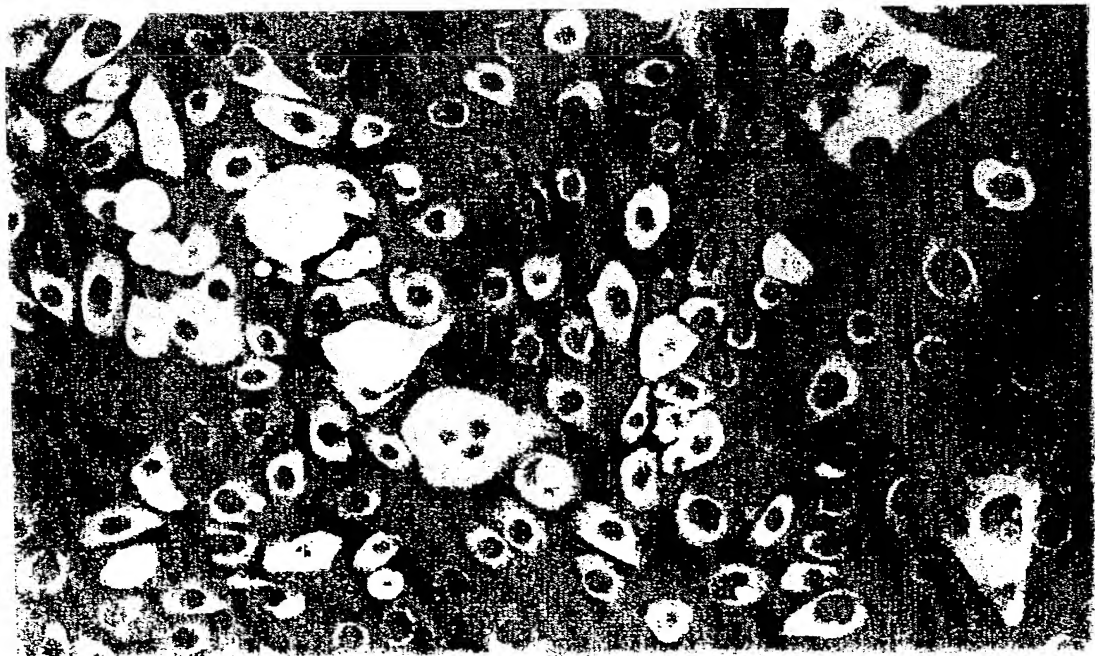
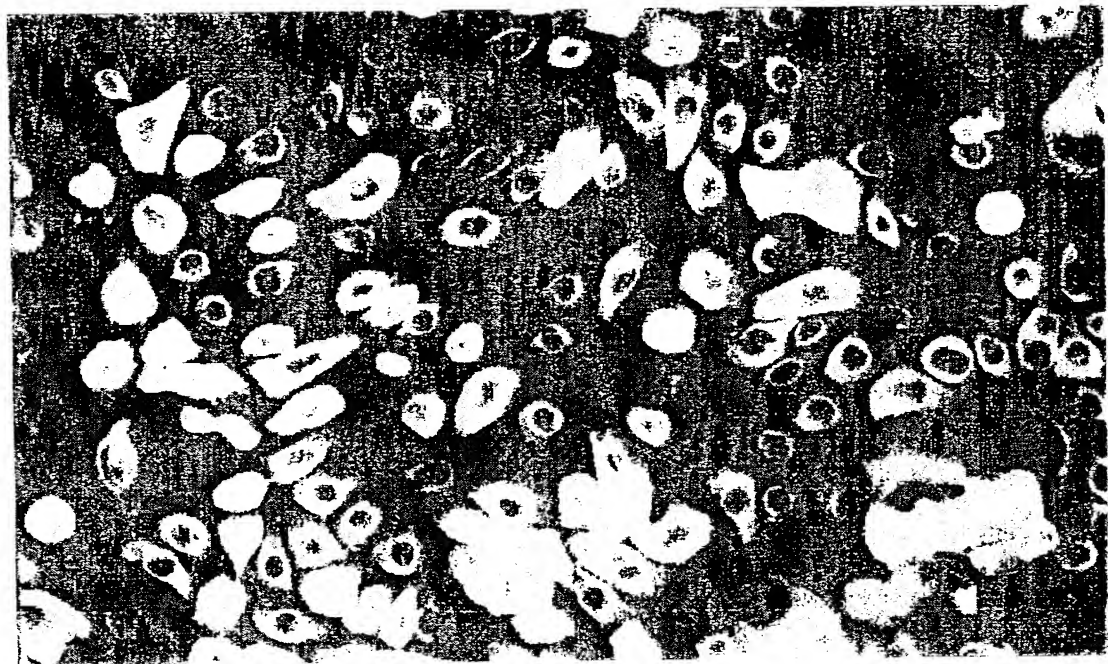






Figure 6 : kératinocytes humains en culture sevrés en oestradiol (culture contrôle)

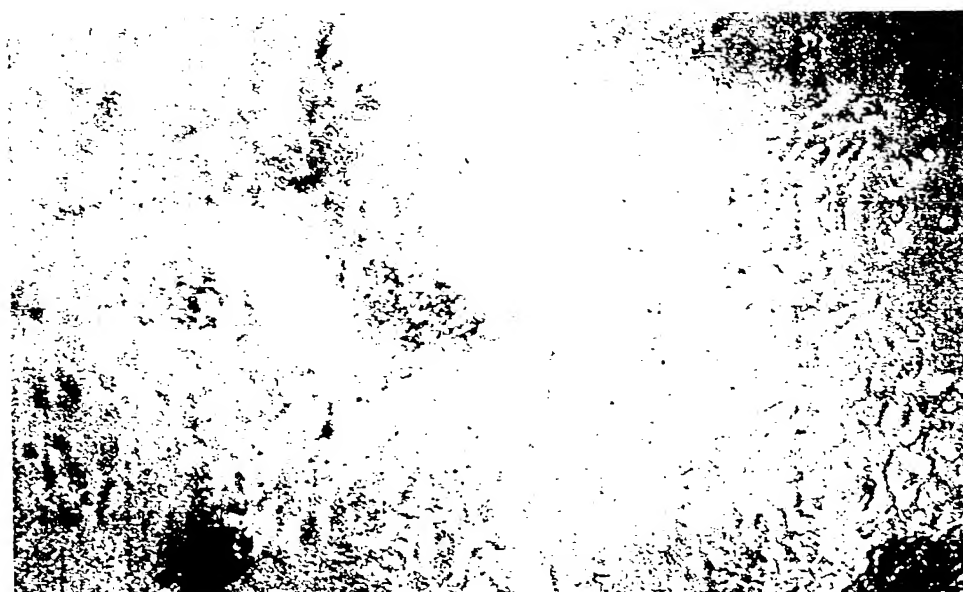


Figure 7 : effet de la composition A sur des kératinocytes humains en culture sevrés en oestradiol



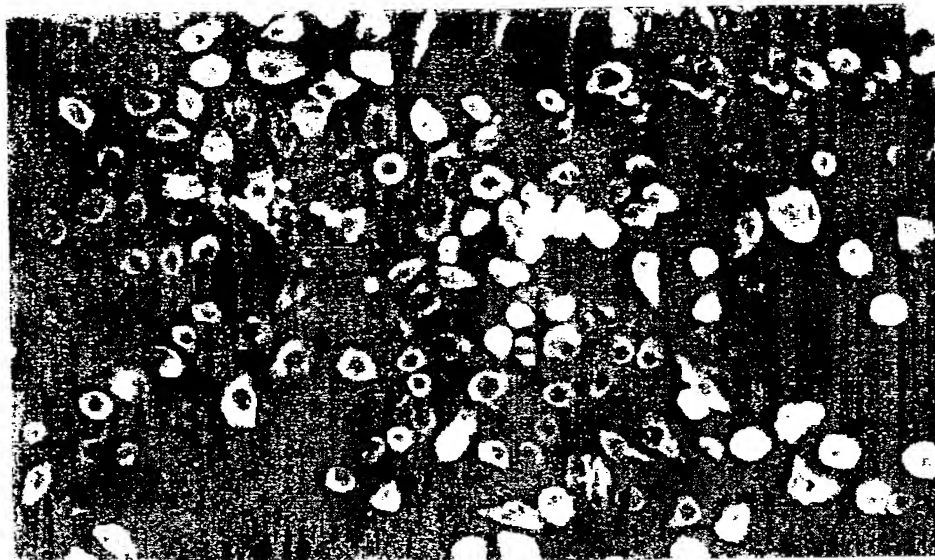


Figure 5 : Staining de cytochromes par des kératinocytes humains en culture sécrétion contrôlée (culture contrôle)







WO 01/24804

PCT/FR00 02766





WO 61/24804

PCT FR93/12766

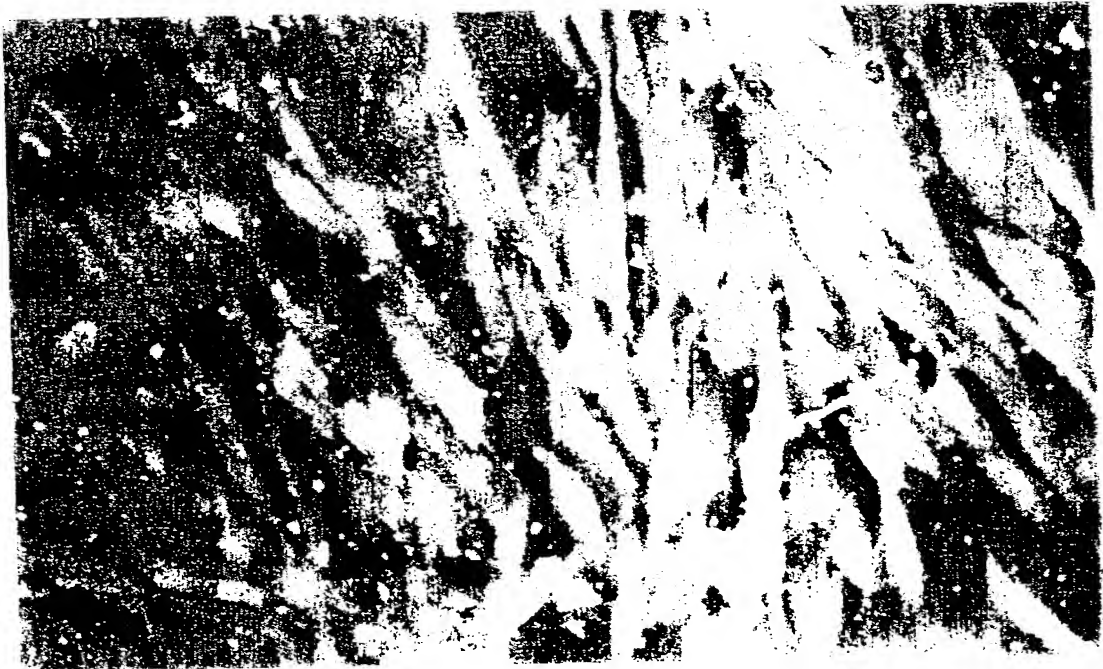
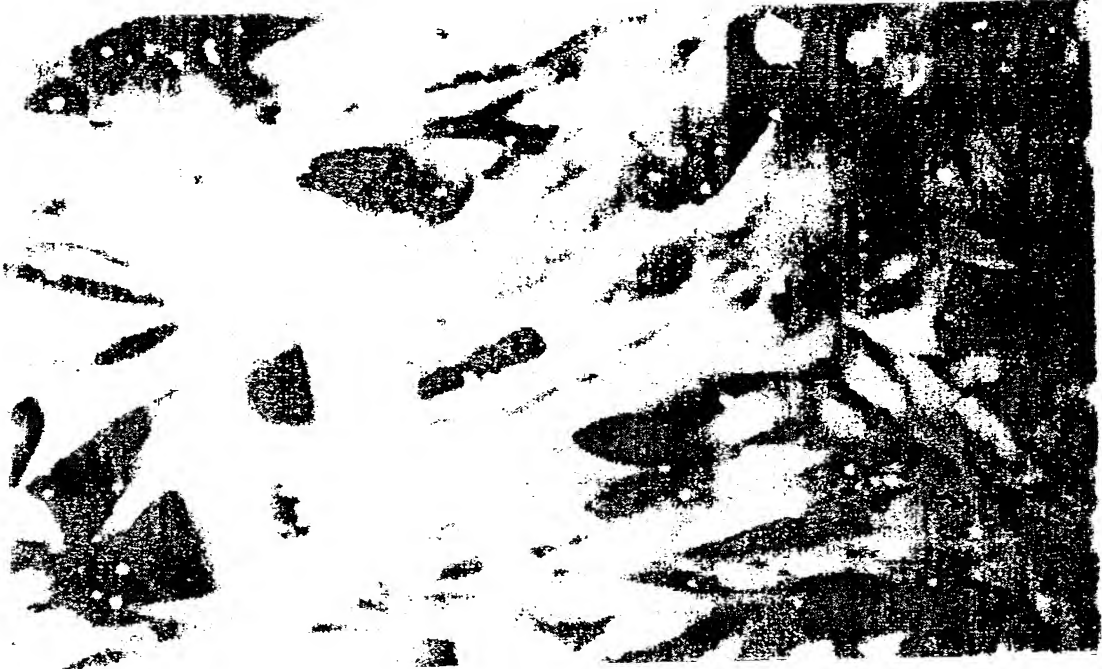






Figure 12 : effet des oestrogènes sur des fibroblastes d'explant de femme ménopausée sous traitement de substitution (culture contrôle de la Figure 14)



Figure 13 : effet des oestrogènes sur des fibroblastes d'explant de femme ménopausée sous traitement de substitution (culture en présence d'oestradiol 17 $\beta$  - sérologie de l'observation et 4 semaines après sérologie contrôle de la Figure 15)



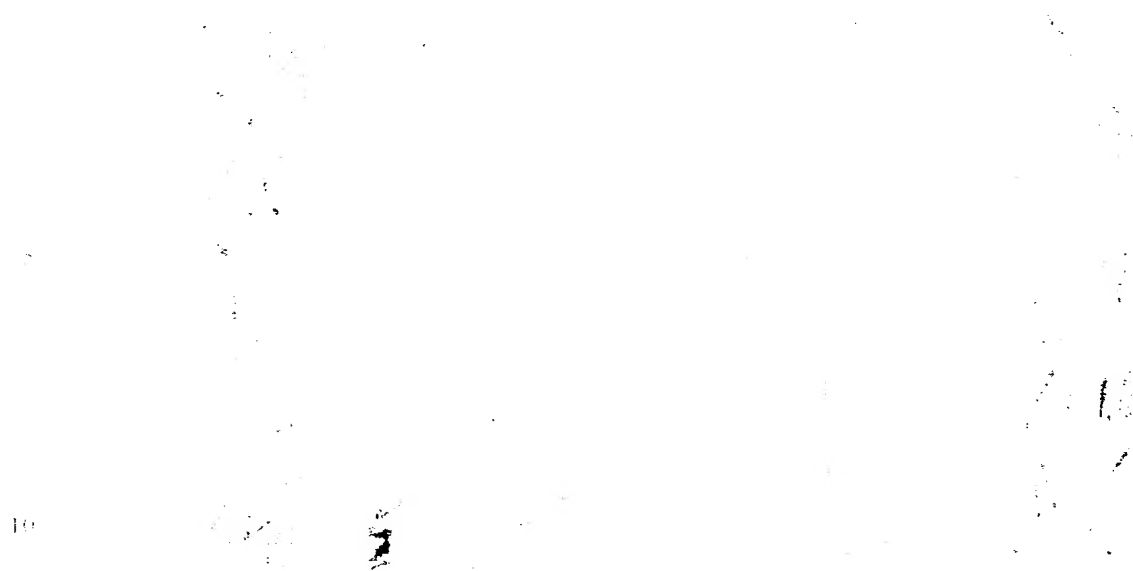


Figure 14 : effet de la composition A sur des fibroblastes sevrés en oestradiol d'explant de femme ménopausée sous traitement de substitution (voir culture contrôle à la Figure 12)



Figure 15 : effet de la composition A sur des fibroblastes sevrés en oestradiol d'explant de femme ménopausée sous traitement de substitution culture en présence d'oestradiol puis culture d'oestrogène et en l'absence de composition A, 72 heures après l'ajout de la composition A





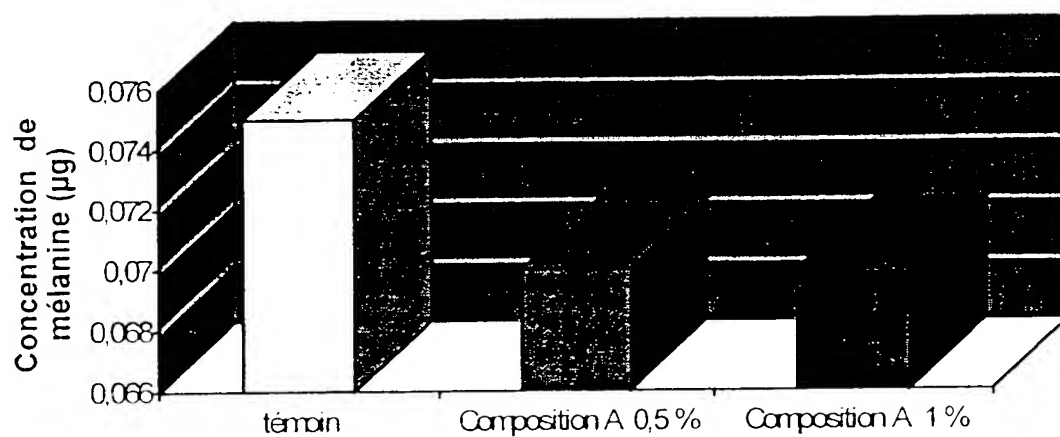
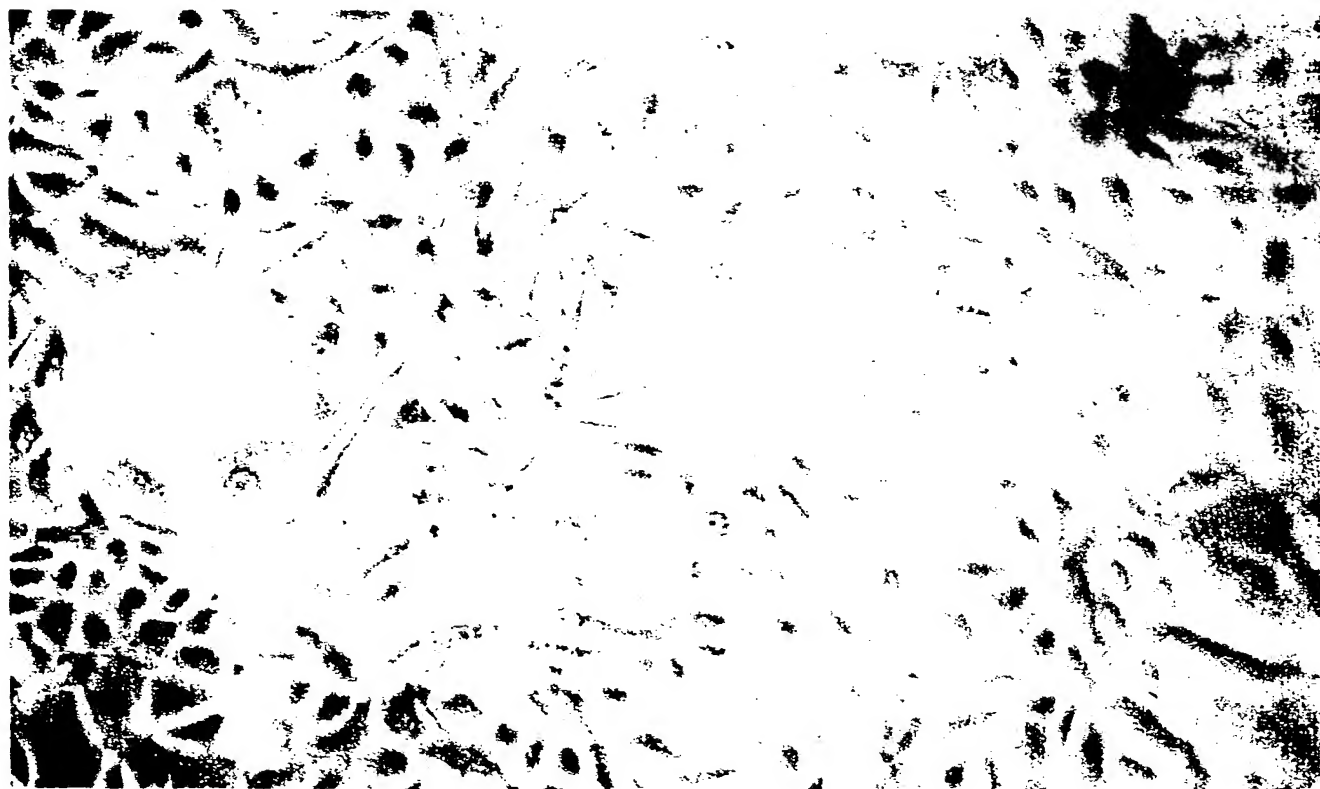


Figure 16 : effet de la composition A sur les mélanocytes : modification de la quantité de mélanine captée par des kératinocytes mis en culture en présence de la composition A



5



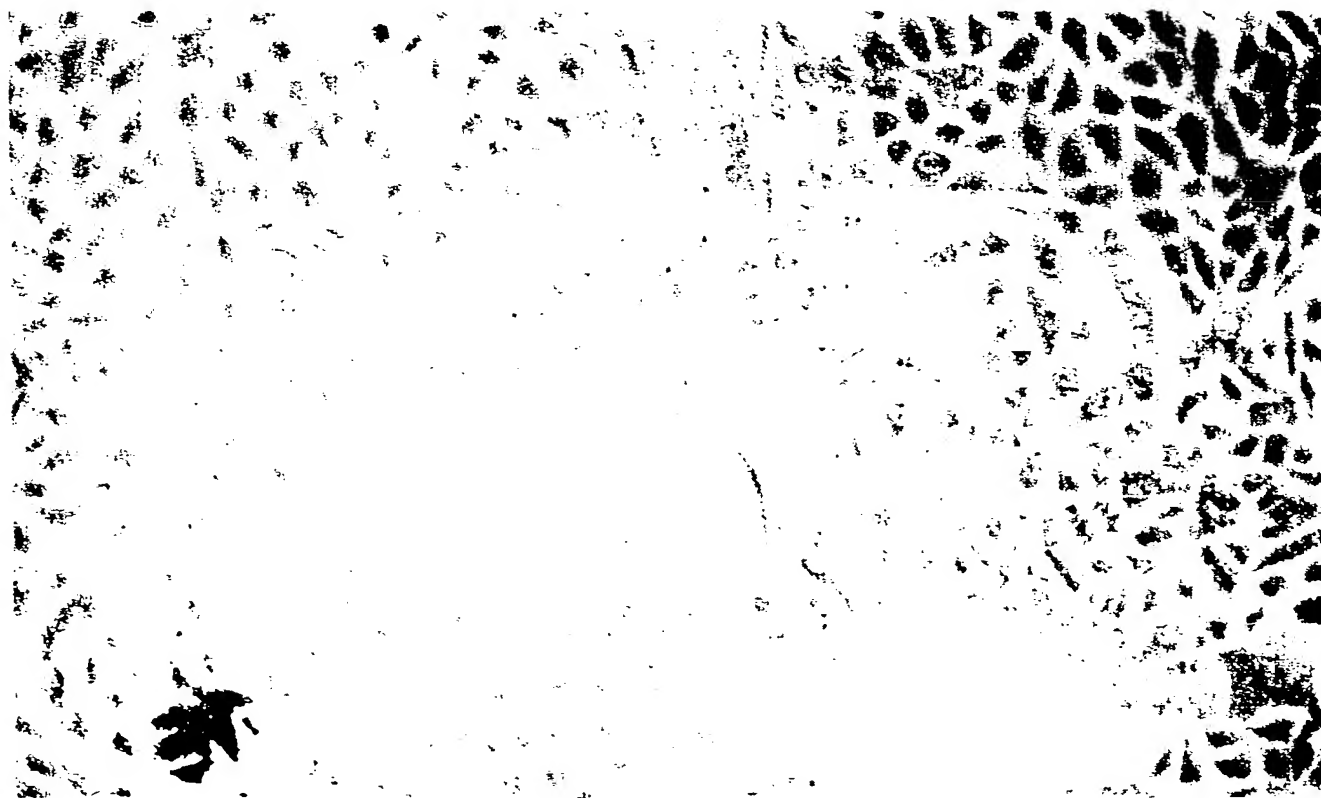
25

Figure 17 : coculture kératinocytes mélanocytes humains. Quantité de mélanine captée par les kératinocytes humains cultivés (contrôle)

30



5



25

Figure 18 : effet de la composition A sur la quantité de mélanine captée par des kératinocytes humains cultivés

30



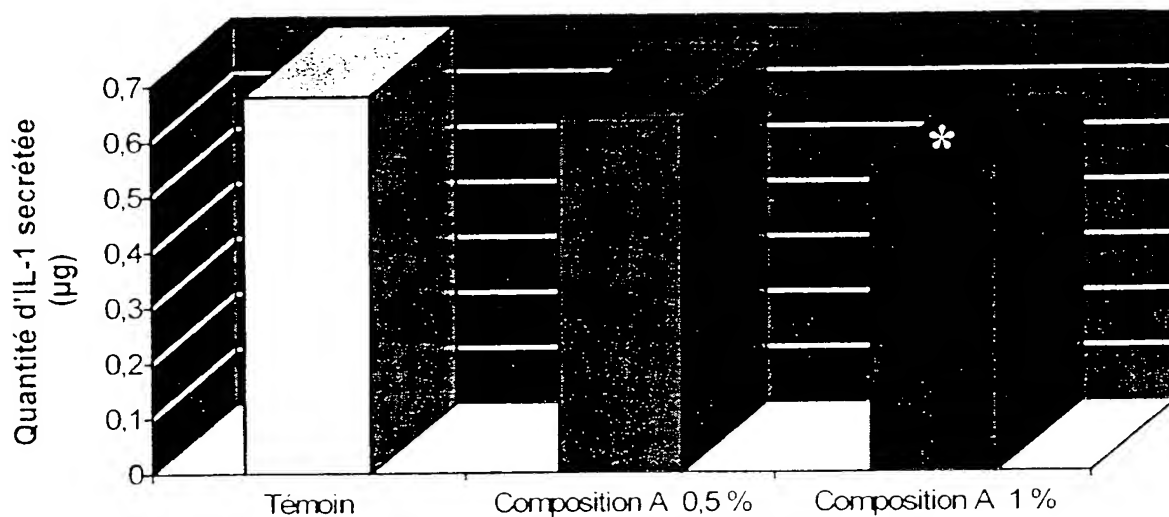


Figure 19 : effet de la composition A sur la sécrétion de l'interleukine 1 (IL-1) par les cellules promyélocyiques HL 60

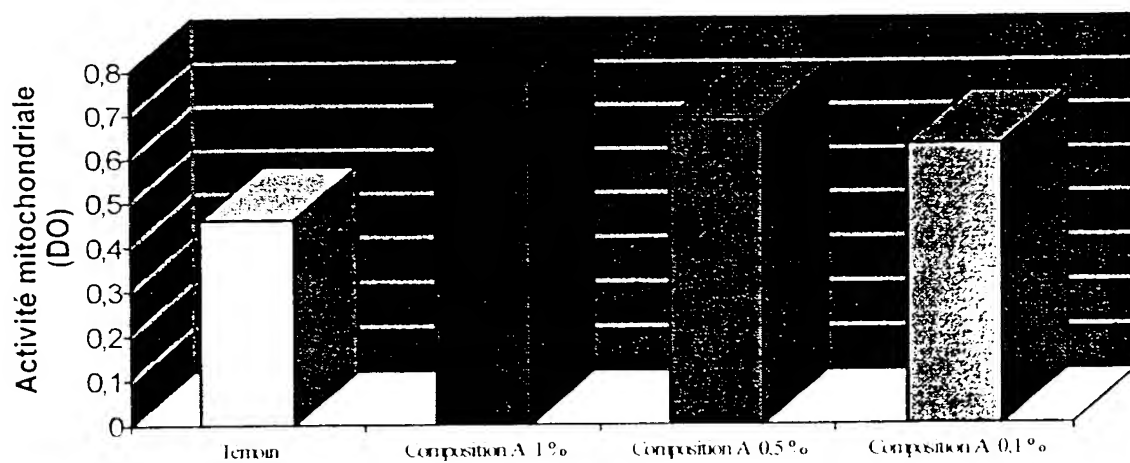


Figure 20 : étude de la non cytotoxicité de la composition préparée selon l'invention : mesures des densités optiques





(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
12 avril 2001 (12.04.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 01/24804 A3**

(51) Classification internationale des brevets :

**A61K 35/56**, 7/48, A61P 17/00, 29/00

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR00/02766

(22) Date de dépôt international : 5 octobre 2000 (05.10.2000)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

99/12409

5 octobre 1999 (05.10.1999) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)** [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR).

(72) Inventeurs : et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **LOPEZ, Evelyne** [FR/FR]; 23, avenue de la Bourdonnais, F-75007 Paris (FR). **CHEMOUNI, Alfred, Edouard** [FR/FR]; 27, rue de la Villette, F-75019 Paris (FR).

(74) Mandataires : **MARTIN, Jean-Jacques** etc.; Cabinet Regimbeau, 20 rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17 (FR).

(81) États désignés (national) : AF, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GR, GU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (regional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

avec rapport de recherche internationale

(88) Date de publication du rapport de recherche internationale : 28 février 2002

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: METHOD FOR PREPARING A COMPOSITION BY MOTHER-OF-PEARL EXTRACTION, AND USE THEREOF IN COSMETICS AND DERMATOLOGY

(54) Titre : PROCEDE DE PREPARATION D'UNE COMPOSITION PAR EXTRACTION DE NACRE ET SON UTILISATION EN COSMETIQUE ET DERMATOLOGIE

(57) Abstract: The invention concerns a method for preparing a composition, characterised in that it comprises steps which consist in: a) reducing mother-of-pearl into powder with grain size distribution ranging between about 1 and about 300 µm; b) placing the obtained powder in close contact with an extracting agent in the form of a hydroglycol solution of at least a collagen, of at least a proteoglycan or a mixture thereof; then c) in collecting the extraction mixture, formed by the close contact, constituting the desired composition. The invention also concerns the composition obtainable by said method. Said composition has very interesting properties relative to the skin and/or skin appendages, in particular tissue-regenerating properties, enabling for instance improved wound healing, and anti-ageing properties for preventing and/or visibly reducing effects related to skin and/or skin appendage ageing.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un procédé de préparation d'une composition, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant: a) à réduire de la nacre en une poudre de granulométrie comprise entre environ 1 et environ 300 µm; b) à mettre la poudre de nacre ainsi obtenue en contact intime avec un agent d'extraction sous la forme d'une solution hydroglycolique d'au moins un collagène, d'au moins un protéoglycane ou d'un mélange de ces derniers; puis c) à récupérer le mélange d'extraction, forme par la mise en contact intime, constituant la composition désirée. La présente invention concerne également la composition susceptible d'être obtenue par ce procédé. Cette composition présente des propriétés très intéressantes vis à vis de la peau et/ou des phanères, notamment des propriétés de régénération tissulaire, permettant par exemple une cicatrisation améliorée, ainsi que des propriétés anti-âge permettant de prévenir et/ou de réduire de manière visible les effets liés au vieillissement de la peau et/ou des phanères.

WO 01/24804 A3

